LE BOTANISTE

Directeur : M. P.-A. DANGEARD

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR DE BOTANIQUE A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

SÉRIE XXIII

FASCICULES I-VI

1931

PRIX DE L'ABONNEMENT A LA SÉRIE DE SIX FASCICULES

50 francs pour la France
60 francs pour l'Étranger

Direction : 1, rue Victor-Cousin

Chèque postal : Paris 687.88

LE BOTANISTE

La collection complète du Botaniste comprenant 23 séries ou volumes est maintenant au prix de $23 \times 50 = 1.150$ fr.

Le prix de chaque volume séparé est de 50 fr., sauf pour certaines séries plus importantes ou en voie d'être épuisées, qui ont subi une légère augmentation indiquée ci-dessous.

Série I. — Contient un Mémoire sur les Chytridinées, un autre sur les Algues avec des recherches d'anatomie végétale. Prix : 60 fr.

Série VI. — Contient en particulier un Mémoire sur les Chlamydomonadinées et une théorie de la sexualité. Prix : 60 fr.

Série X. — Contient le Mémoire si souvent cité sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes avec 91 planches. Prix : 100 fr.

Série XI. — Contient un Mémoire sur le développement et la structure des organismes inférieurs avec nombreuses planches. Prix : 60 fr.

Série XV. — Contient le Mémoire important de Pierre Dangeard sur l'évolution du système vacuolaire chez les végétaux avec planches en couleurs. Prix : 60 fr.

Série XIX. — Contient le volume de 400 pages que nous avons publié sur l'assimilation chlorophyllienne, avec 10 planches et nombreuses figures dans le texte. Prix 60 fr.

Les Séries I, VI, X, XV ne restent plus qu'en un nombre limité d'exemplaires.

Nota. — Il suffit d'ajouter un supplément de 5 fr. aux prix indiqués pour recevoir francô, une *série quelconque* de la collection : pour une *collection complète* ce supplément est de cinquante francs.

LE BOTANISTE

—

Série XXIII

—

1931

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU
DÉVELOPPEMENT DES ASCOMYCÈTES

PAR
BOGDAN VARITCHAK

PRÉFACE

Lorsque nous avons abordé la question du développement du périthèce chez les Ascomycètes nous avions l'intention de limiter cette étude au groupe des Pyrénomycètes. Mais au cours de nos travaux nous avons rencontré des espèces qui nous ont paru particulièrement intéressantes.

Bien qu'ayant étudié un grand nombre d'espèces, faute de matériel et à cause d'autres difficultés nous avons dû nous borner ici à l'exposition du développement d'un nombre assez restreint.

En terminant ce travail, nous pensons avec reconnaissance à la mémoire de M. N. Patouillard qui a bien voulu guider nos premiers pas en mycologie. Si nous avons pu mener ce travail à bonne fin c'est seulement grâce à M. P-A. Dangeard, qui nous a soutenu dans nos efforts et dans le laboratoire duquel nous avons été heureux de pouvoir travailler pendant trois années. Nous prions cet excellent Maître d'agréer l'expression de notre gratitude.

Nous remercions M. E. Föex directeur de station de la pathologie végétale de Paris et M. V. Vouk professeur à la faculté des sciences de Zagreb qui ont bien voulu nous permettre de travailler pendant les vacances dans leurs laboratoires ainsi que M. Fron et M. Maublanc auprès

desquels nous avons toujours trouvé le meilleur accueil.

Nous sommes heureux de remercier particulièrement notre excellent ami M. R. Kühner avec qui nous avons fait tant d'excursions et qui nous a aidé dans la récolte des échantillons.

Enfin nous prions M. R. Warnier professeur agrégé à l'Université de Zagreb d'agréer nos remerciements et l'expression de notre reconnaissance.

INTRODUCTION

Dans le présent mémoire qui est une contribution à l'étude du développement des Ascomycètes nous avons étudié un certain nombre de ces Champignons et essayé d'approfondir ainsi nos connaissances sur cette remarquable classe de végétaux inférieurs. Une pléiade de savants mycologues ont déjà, nous ne l'ignorons pas, obtenu bien des résultats importants. Mais malgré toutes les notions acquises, malgré les magnifiques efforts si souvent couronnés de succès, il restait encore beaucoup à faire pour les raisons que nous allons exposer.

1. La question du développement chez les Ascomycètes est intimement liée avec le problème de la sexualité. Dans tous les jeunes asques, à part quelques exceptions, il se produit ce qu'on appelle la fusion dangeardienne, fusion qu'il faut regarder comme une fécondation. D'où proviennent ces deux noyaux qui vont fusionner ? Un passage rapide à travers les différents groupes de Champignons nous apprend que leur origine n'est pas toujours la même. Vue la grande différence d'opinions à cet égard, les choses se compliquent étrangement. Nous n'insistons pas sur ce point parce que nous aurons l'occasion de revenir à plusieurs reprises sur cette question dans notre travail ; nous nous contentons d'indiquer qu'il y a un grand intérêt à établir cette origine.

2. Ce qui paraît certain, c'est que les manifestations sexuelles chez les Ascomycètes sont, au moins en apparence, en voie de rétrogradation. On a pensé que ce processus ne s'opère pas brusquement mais progressivement. En rapport avec ce fait les organes correspondants ont

subi une transformation qui semble aller de pair avec l'organisation générale. Cela nous permet d'entrevoir la filiation de ces organismes. C'est un fait très important parce que la phylogénie des Champignons est aujourd'hui encore interprétée de différentes manières. Tandis que les uns sont partisans d'une origine monophylétique, les autres professent une sympathie plus prononcée pour l'origine polyphylétique. La solution de ce problème a une importance d'autant plus grande que de la phylogénie à une classification naturelle il n'y a qu'un pas.

3. Nous venons de voir qu'en étudiant le développement des Ascomycètes, on est amené à des problèmes du plus haut intérêt par exemple la sexualité et la phylogénie. Il n'existe qu'un seul travail de grande envergure qui tient compte de ces problèmes : c'est celui de M. P.-A. Dangeard. C'est à lui que nous devons une interprétation simple, claire et logique de ces faits. Pourtant certains travaux sont dans une flagrante contradiction avec les idées professées par ce savant. En ce qui concerne notre manière d'envisager ces problèmes, nous l'exposerons dans le chapitre *Considérations générales et conclusions* et en même temps, nous discuterons les diverses opinions récentes les plus en vogues. Pour le moment nous soulignons seulement le fait que le nombre des espèces bien étudiées est infiniment petit par rapport au nombre des espèces décrites jusqu'à présent.

4. D'autre part, on sait que les Ascomycètes déterminent chez les plantes cultivées un grand nombre des maladies qui font parfois des dégâts très sensibles. Pour remédier à ces maux, il faut combattre les causes. Pour choisir judicieusement la méthode et le moment d'une intervention salutaire, et pour avoir le maximum de chances de réussite il faut d'abord bien connaître dans chaque cas le Champignon mis en cause. C'est pour cela que l'étude du développement des Champignons et surtout des Champignons parasites est d'un haut intérêt non

seulement pour la science pure, mais encore pour la science appliquée — la pathologie végétale.

*
* *

Ce travail est divisé en deux parties. Dans la première, nous allons exposer nos études sur *Ascoidea rubescens*. C'est un Champignon appartenant au groupe des *Hemiasci*. L'étude de cette espèce nous a permis de saisir clairement le véritable caractère de ce groupe. C'est pour cela que nous avons intitulé la première partie de ce mémoire *Hemiasci*. Par contre la deuxième partie est consacrée à l'étude des Ascomycètes proprement dits. Ici nous allons exposer nos recherches sur le développement de quatre espèces différentes et ensuite, dans un chapitre à part, nous exposerons nos *Considérations générales et conclusions*.

TECHNIQUE

Pour réaliser ce travail il nous a suffi d'appliquer rationnellement les méthodes qui sont aujourd'hui courantes en histologie. Nos fixateurs de choix ont été ceux à base d'acide osmique. Pour colorer nos préparations nous avons employé surtout :

I. Hématoxyline avec mordançage et régression à l'alun de fer ammoniacal.

La solution d'Hématoxyline a été ainsi préparée :

Glycérine	10 cmc.
Alcool éthylique à 96 %	10 cmc.
Eau distillée	80 cmc.
Hématoxyline	1 gr.

II. La triple-coloration de Flemming.

Dans les manuels de technique botanique, on trouve plusieurs variantes de cette méthode de coloration par lesquelles on peut obtenir des préparations assez satisfaisantes. Mais une longue expérience nous a appris que pour chaque espèce il faut procéder par tâtonnements pour obtenir le procédé qui convient le mieux.

Nous donnerons des détails plus précis au fur et à mesure que cela nous paraîtra nécessaire.

PREMIÈRE PARTIE

HEMIASCI (Brefeld) Varitchak

Introduction. — Le nom d'*Hemiasci* a été créé par Brefeld pour désigner un certain groupe de Champignons inférieurs qui d'après lui doit représenter la transition entre les Phycomycètes (1) et les Ascomycètes. Cet auteur a rangé aussi *Ascoidea rubescens* parmi ces Champignons. Comme il n'a pas été bien étudié au point de vue cytologique nous nous sommes chargé de ce soin.

Nous pouvons dire que pendant nos recherches sur *Ascoidea rubescens* nous avons obtenu des résultats qui semblent avoir une certaine importance pour la mycologie. En réalité l'étude de cette espèce nous a révélé la véritable nature des *Hemiasci* et nous avons été en mesure d'interpréter d'une manière nouvelle ce groupe très intéressant de Champignons inférieurs. Pour mieux mettre en relief ces résultats nous avons été obligé d'exposer dans ce travail nos considérations théoriques d'une manière très détaillée.

1. Nous ferons remarquer que, si nous employons assez souvent, au cours de cette étude le terme de Phycomycètes pour désigner l'ensemble des Champignons inférieurs dont la plupart possèdent un thalle formé d'hyphes non cloisonnés (Siphomycètes de P.-A. Dangeard) il reste bien entendu que ce n'est pour nous qu'un terme commode dont l'acception est consacrée par l'usage. C'est pour cette raison que nous avons cru pouvoir le conserver, bien qu'il laisse préjuger que les Champignons constituent un groupe polyphylétique dont les souches se trouveraient parmi différentes familles d'algues, alors qu'en réalité nous pensons qu'ils forment un groupe autonome et monophylétique.

Pour des raisons de clarté nous allons diviser la première partie de notre travail en deux chapitres parce que nous avons eu grand soin de ne pas mêler les faits positifs et constatés avec nos interprétations. C'est ainsi qu'on trouvera exposées dans le premier chapitre intitulé : *Ascoidea rubescens* Brefeld nos recherches sur ce Champignon. C'est seulement à propos du cytome que nous nous sommes permis de tirer quelques conclusions d'ordre général.

Par contre, dans le chapitre suivant qui se divise en plusieurs parties, nous allons exposer nos conceptions :

1. Sur la position systématique d'*Ascoidea rubescens*.
2. Sur la signification des *Hemiasci*.
3. Sur les relations de ce Champignon avec les groupes voisins, telles que nous les comprenons.

En même temps nous exposerons dans ce chapitre toutes les conséquences théoriques qu'on peut tirer à notre avis de cette étude sur l'*Ascoidea rubescens*.

CHAPITRE I

Ascoidea rubescens Brefeld

Le genre Ascoidea. — Il y a seulement deux espèces connues jusqu'à présent, qui composent le genre *Ascoidea*. Ce sont : *Ascoidea rubescens* et *Ascoidea saprolegnioides*. L'espèce type : *Ascoidea rubescens* fut trouvée la première par Lindau et étudiée ensuite par lui et Brefeld.

En 1898, Holtermann nous apprit à connaître la deuxième espèce de ce genre : *Ascoidea saprolegnioides*. Depuis ce temps les espèces d'*Ascoidea* ont été considérées d'ordinaire comme *Hemiasci* quoiqu'il y ait eu des conceptions contraires. C'est ainsi que Saccardo a rangé les espèces d'*Ascoidea* parmi les *Gymnoascaceae*. Nous reviendrons sur ce point dans le deuxième chapitre.

On peut dire qu'aujourd'hui la morphologie de l'*Ascoidea rubescens* est bien connue, grâce aux travaux de Lindau et de Brefeld. Nous admirons sans réserves les beaux dessins très explicatifs fournis par ces auteurs. Quant à *Ascoidea saprolegnioides* c'est Holtermann qui en a donné d'excellentes figures.

Au point de vue cytologique seul, *Ascoidea rubescens* a été étudié par Mlle Popta. Pourtant nos connaissances sur l'évolution nucléaire chez cette espèce sont restées dans l'obscurité la plus complète. Mlle Popta étudia le développement des asques sur le matériel vivant comme sur le matériel fixé. Nous pouvons confirmer entièrement les observations faites *in vivo*. Cependant les observations de cette nature, quoique très instructives, sont insuffisantes pour résoudre la question de l'évolution nucléaire

dans les asques, étant donné qu'elles ne révèlent pas les phénomènes intimes de cette évolution. Quant au matériel fixé, il fut traité de telle façon que nous ne nous étonnons pas, que la solution définitive de cette question ait échappé à cet auteur. Cette question exige un matériel abondant ainsi qu'une méthode accomplie que nous étions en mesure d'appliquer grâce aux progrès remarquables de la cytologie moderne.

Le matériel pour l'étude de l'Ascoidea rubescens. — Nous avons trouvé *Ascoidea rubescens* dans les environs de Paris surtout au Bois de Boulogne, au Bois de Vincennes, à Saint-Cyr l'Ecole, à Saint-Cloud, à Trappes et à Versailles. Plus tard, nous avons retrouvé cette espèce en Yougoslavie dans les environs de Zagreb.

Ce Champignon vit dans des conditions particulières : on ne le trouve que dans la sève excrétée par les blessures des arbres à partir du printemps jusqu'à l'automne. Là, il peut former soit une pellicule à peine perceptible, soit une culture épaisse de 10 à 20 mm.

Le matériel trouvé dans la nature nous a servi comme point de départ pour obtenir les cultures pures. Le milieu nutritif a été composé ainsi.

Moût de bière	500 cmc.
Décoction d'écorce de Hêtre	500 cmc.
Sulfate de Magnésium (SO^4 Mg, 7 H^2O)........	5 gr.
Phosphate dipotassique (PO^4K^2H)	5 gr.
Gélose	20 gr.

Nous indiquons que nous avons employé à peu près le même milieu pour nos cultures que Mlle Popta. Mais au lieu de faire des cultures sur des morceaux de bois de Hêtre stérilisés et trempés dans le liquide nutritif, nous avons additionné ce liquide de gélose pour obtenir un milieu solide et transparent.

Le milieu ainsi préparé nous a permis d'obtenir un matériel abondant et pur ce qui a grandement facilité nos recherches. De même le contrôle des cultures sous le

microscope ainsi que la fixation du matériel et l'inclusion à la paraffine ont été plus commodes.

A titre de comparaison, nous avons fixé aussi immédiatement sur place même le matériel trouvé dans la nature. Les résultats obtenus ont toujours été les mêmes.

Nous allons étudier *Ascoidea rubescens* particulièrement au point de vue de l'évolution nucléaire et du cytome en nous basant sur les préparations fixées (Flemming faible, Regaud) et colorées (Hématoxyline). En même temps nous complétons ces observations par l'étude vitale.

A. Étude sur l'évolution nucléaire chez *Ascoidea rubescens*.

Le mycélium et la reproduction végétative. — Comme point de départ des observations sur l'évolution de ce Champignon, on peut prendre les conidies ou les ascospores. Le résultat final est toujours le même c'est-à-dire qu'il se forme un mycélium cloisonné à cellules polyénergides, qui produit à son tour les éléments de la reproduction : conidies et ascospores. A ce point de vue, il n'y a pas de différence entre ces deux sortes de mycélium, si ce n'est le fait que dans le premier cas, le mycélium est un peu plus vigoureux que dans le second. Malgré cela, les ascospores accusent une grande homogénéité au point de vue de la forme, de la grandeur et de la structure cytologique. Chaque cellule végétative du mycélium possède à peu près une dizaine de noyaux qui, chez les cellules adultes, sont répartis dans la couche pariétale du plasma.

Le mycélium une fois formé ne tarde pas à procéder à la formation des conidies qui se forment sur les conidiophores représentés par de courtes branches latérales du mycélium, dressées en l'air. Aux points terminaux, elles produisent les conidies par une sorte de bourgeonnement. La figure 1 pag. 14 représente les détails cytologiques. La cellule terminale se prolonge légèrement et forme un renflement (fig. 1,

A) qui prend progressivement de la grandeur. C'est la jeune conidie qui est bourrée de protoplasme. Un peu plus tard, un certain nombre de noyaux pénètrent dans la

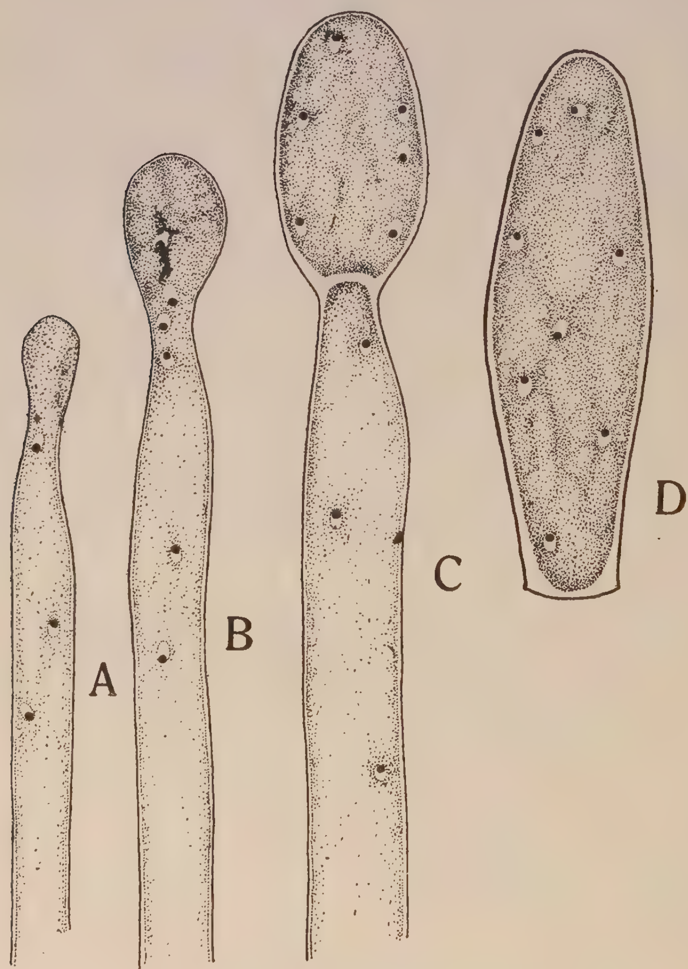


Fig. 1. — *Ascoidea rubescens.* Formation d'une conidie.

jeune conidie (fig. 1, B) se séparant du conidiophore par une membrane (fig. 1, C). La conidie ainsi formée atteint bientôt ses dimensions définitives. Le conidiophore poursuit sa croissance apicale et c'est pour cela que la conidie

une fois formée, prend finalement une position latérale et laisse la place libre au sommet pour la production d'une seconde conidie et ainsi de suite.

La figure 1, D représente une conidie détachée. Elle aussi est polyénergide. Le nombre des noyaux qui est d'abord assez restreint augmente à la suite des mitoses successives. Dans les cellules végétatives, les noyaux se divisent de la même manière, et nous avons pu constater que le nombre des chromosomes était toujours de deux. C'est une constatation qui ne manque pas d'un certain intérêt. Mais cela va devenir évident seulement quand nous allons aborder la question de l'évolution nucléaire dans les asques.

Nous dirons encore quelques mots sur la germination des conidies. Si l'on ensemence les conidies sur le milieu nutritif que nous avons employé d'ordinaire (voir page 12) la germination se produit au bout d'une demi-journée. Etant donné que la conidie est polyénergide, le tube germinatif et aussi le mycélium sont polyénergides dès le début.

La reproduction sexuelle. — Maintenant nous allons parler de la reproduction sexuelle c'est-à-dire de la formation des asques, de l'évolution des noyaux et de la formation des ascospores.

Le mycélium commence à former les asques après quelques jours d'une abondante production de conidies. On peut observer que la formation des asques augmente progressivement et parallèlement avec la diminution de la production des conidies. Si l'on ajoute de nouveau du liquide nutritif à une culture pure la formation des conidies reprend de nouveau.

Au commencement le jeune asque ne diffère en rien des autres cellules végétatives du mycélium (fig. 1, Pl. I). Le plasma qui forme d'abord une couche pariétale et possède de nombreux noyaux devient bientôt plus abondant et

présente à ce moment un aspect réticulé. Mais la plus grande partie du plasma reste malgré cela dans le voisinage de la paroi comme on peut le voir au moment de la formation des spores. En même temps, on peut constater une accumulation de matières de réserve : le glycogène et les gouttelettes d'huile. On peut facilement mettre en évidence le glycogène avec le Lugol, comme dans les cellules du mycélium. Ces substances de réserves seront utilisées plus tard pendant la formation des ascospores.

Chaque noyau a un nucléole qui se colore plus intensivement que le reste. Le nucléole est situé d'une façon excentrique comme c'est le cas chez les *Erysiphaceae*, mais ici le centrosome est visible seulement immédiatement avant et après la mitose. Le reste du noyau apparaît homogène dans les préparations fixées au Flemming faible et colorées à l'Hématoxyline ferrique. A un moment donné on constate le rapprochement de deux noyaux privilégiés, qui se mettent bientôt en contact et dont le volume augmente légèrement (fig. 2, Pl. I). Comme nous le savons déjà, ces deux noyaux contiennent chacun deux chromosomes ; ils ne tardent pas à se fusionner (fig. 3, Pl. I) ainsi que le font les nucléoles à leur tour. Le volume de ce noyau double est beaucoup plus grand que celui des autres noyaux (fig. 4, Pl. I). Avec différents colorants, il prend une coloration diffuse qui ne permet pas de distinguer le réseau chromatique. Quant au nucléole, il est toujours bien colorable. C'est le noyau double qui fournit à la suite de nombreuses divisions les noyaux des futures ascospores.

Le fuseau de la première division du noyau double est très grand et nous pensons que c'est à ce moment que s'opère la réduction chromatique parce que plus tard, on trouve pendant les mitoses que le nombre de chromosomes est de deux comme c'est le cas pendant la division des noyaux dans le mycélium ou dans les conidies. Nous n'avons trouvé que deux stades qui se rapportent à la première mitose malgré les milliers et les milliers de prépa-

rations que nous avons examinées. Le premier stade que nous attribuons à la prophase présente un noyau dans lequel on voit en dehors du nucléole, dans la substance homogène du noyau proprement dit, un certain nombre de petits granules très colorés. Au pôle opposé par rapport au nucléole qui est placé excentriquement, se trouve un granule, également très chromatique et lié par un trabécule avec le reste du noyau : c'est le centrosome. Nous mentionnons ici que l'apparition du centrosome précède la mitose. On ne le trouve jamais dans un noyau en repos. Le deuxième stade a été représenté par une mitose (fig. 5, Pl. I). Le fuseau dit achromatique est très net et long. On distingue quatre granules plus denses et un granule à côté du fuseau. Étant donné que nous n'avons pas trouvé les autres stades, il est difficile de se prononcer sur la signification de cette figure, mais nous sommes tenté d'interpréter ces quatre masses qu'on voit le long du fuseau comme les chromosomes qui s'acheminent vers les pôles. La masse voisine du fuseau correspond bien, d'après la grandeur, au nucléole.

Dans les stades suivants, on trouve souvent 2-4-6 ou plusieurs grands noyaux à côté de noyaux plus petits (fig. 6, 7, 8 ; Pl. I). Ces grands noyaux dont la taille peut être différente proviennent du noyau double tandis que les autres proviennent des noyaux primaires de l'asque. La différence de taille chez ces grands noyaux s'explique facilement par le fait que toutes les mitoses ne sont pas forcément simultanées. L'aspect morphologique de ces noyaux est si caractéristique qu'il mérite d'être décrit. Le noyau proprement dit est plus ou moins aplati et affecte la forme d'un disque et comme toujours, il prend une coloration homogène et diffuse, qui ne permet pas de voir le réseau chromatique. Dans le noyau vu latéralement, le nucléole qui est très chromophile semble lui être accolé et paraît occuper une position centrale dans les noyaux, vue de face (fig. 6 et 8, Pl. I).

Sur ce point, on peut facilement obtenir la certitude si l'on met au point sous le microscope un de ces noyaux qui sont dans la position latérale. Une légère pression exercée sur la préparation suffit pour déplacer ce noyau de telle manière qu'on peut le voir de face. Au fur et à mesure que les noyaux se divisent, ils deviennent de plus en plus petits de telle sorte qu'on ne distingue pas bien les noyaux primaires de ceux qui proviennent d'un noyau double

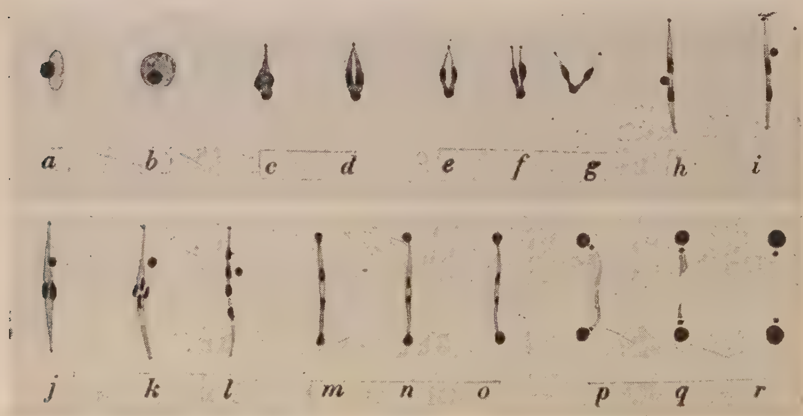


Fig. 2. — *Ascoidea rubescens.* Différents stades de division des noyaux dans les organes végétatifs (*b-h*) et dans les sacs sporifères (*a*, *h-r*)

(fig. 2, Pl. II). La différence morphologique entre ces deux séries de noyaux s'atténue légèrement mais progressivement. Nous avons trouvé dans plusieurs asques tous les noyaux en division (fig. 1, Pl. II). Ces divisions simultanées sont assez fréquentes et nous allons reconstituer la division des noyaux d'après les différents stades que nous avons pu trouver.

Avant tout, il faut mentionner que la grandeur du fuseau est proportionnelle à la grandeur du noyau. La première indication de la division est l'apparition du centrosome dans le noyau à la proximité du nucléole (fig. 2,*a* ; pag. 18). Nous n'avons pas trouvé les autres stades de la

prophase. Dans les stades suivants, le fuseau est déjà formé (fig. 2, *h*, *i*, *j*). On y trouvait deux chromosomes placés sur le fuseau parallèlement ou perpendiculairement à ce dernier. Chacun de ces deux chromosomes se divise en deux et on voit nettement ces quatre chromosomes dans la figure 2, k. Au-dessus de la plaque équatoriale, on remarque le nucléole qui va bientôt disparaître dans le plasma. Les chromosomes vont s'acheminer vers les pôles du fuseau (fig. 2; *l*, *m*, *n*, *o*, *p*,) où la masse chromatique se condense. Le fuseau se rompt au milieu (fig. 2, *q*) et disparaît progressivement. Finalement les noyaux issus de la division se trouvent séparés l'un de l'autre et à côté de chacun d'eux on trouve un centrosome (fig. 2 ; *r*). La Planche II, figure 2 représente un asque avec les noyaux à ce stade. Les noyaux ne tardent pas à prendre leur aspect normal.

Nous rappelons ici que les noyaux végétatifs se divisent à peu près de la même manière dans les conidies et dans les cellules du mycélium. Ils possèdent le même nombre de chromosomes comme tous les autres noyaux dans les asques à l'exception du noyau double. Par conséquent la réduction chromatique s'accomplit pendant la première mitose. En outre, nous avons réussi à observer la formation du fuseau pendant la mitose des noyaux végétatifs. Nous pouvons constater que la première indication de la division est l'apparition du centrosome dans le noyau, comme c'est le cas chez les noyaux issus du noyau double. Ensuite on observe quelques filaments chromatiques, le noyau devient plus chromophile et en même temps le centrosome s'achemine vers la périphérie du noyau (fig. 2, *b*). Un peu plus tard le noyau devient entièrement chromatique. Sa morphologie change de même. Le noyau devient plus ou moins allongé ; à l'un des deux pôles on trouve le centrosome qui pendant ce temps a augmenté légèrement son volume tandis que le nucléole est situé tout à fait à la périphérie (fig. 2, *c*). Dans le stade suivant,

toutes les parties du noyau sont très colorées. Un pôle est occupé par ce centrosome et à l'autre, on trouve le nucléole. Entre ces deux pôles on voit la masse chromatique qui va fournir les chromosomes. A la suite de cette disposition des éléments nucléaires le noyau prend un aspect plus fusiforme vers le pôle qui est occupé par le centrosome. Cet aspect caractéristique du noyau va s'accentuer et en même temps on observe la différenciation de la masse chromatique en chromosomes, qui finalement sont placés l'un à côté de l'autre (fig. 2, *e*). Dans ce stade le centrosome est relié par les trabécules avec les chromosomes, tandis que le nucléole occupe toujours le pôle opposé. A un moment donné le centrosome se divise en deux parties. Ce sont les centrosomes du fuseau. Chacun de ces deux centrosomes est rattaché par un trabécule à un des chromosomes (fig. 2, *f*). A cause de cela le noyau prend l'aspect d'un angle aigu. La grandeur de cet angle augmente à la suite de l'écartement des centrosomes jusqu'à 180°, c'est-à-dire jusqu'à la formation du fuseau (fig. 2 ; *g*, *h*).

Les stades ultérieurs sont identiques à ceux que nous trouvons pendant la division des noyaux dans les asques. Ces stades ont déjà été décrits et représentés par nous dans la même figure (*h*-*r*).

Retournons maintenant à l'évolution des noyaux dans le sac sporifère. Constatons d'abord que tous les noyaux dans ces sacs ont été en division. Par conséquent on peut dire en général que les noyaux de ces deux séries se comportent de la même façon pendant la mitose, mais les noyaux qui proviennent du noyau double possèdent au commencement des fuseaux relativement plus grands. Au fur et à mesure qu'ils se multiplient, cette différence s'atténue légèrement mais progressivement. Même fait que celui que nous avons déjà indiqué pour les deux séries de noyaux quiescents.

Cependant la destinée de ces noyaux va être très différente : ceux qui proviennent du noyau de fécondation sont

destinés aux spores de l'asque ; les autres vont dégénérer et disparaître par la suite : ces derniers prennent à l'Hématoxyline une coloration homogène qui ne permet pas une différenciation entre le noyau proprement dit et le nucléole. Il semble également qu'ils ne se divisent plus. Au contraire, les noyaux qui proviennent du noyau double continuent à se diviser et finalement semblent être un peu plus petits.

Au moment de la formation des spores la différence entre ces deux séries de noyaux devient plus nette (fig. 3, Pl. II). Les noyaux qui proviennent des noyaux doubles s'entourent de protoplasme et forment des spores qui sont d'abord filiformes, tandis que les autres restent en dehors dans l'épiplasme. Au point de vue morphologique, il y a aussi une différence. Les noyaux des jeunes spores se présentent comme de petits points bien colorés entourés d'une hyalosphère, tandis que les noyaux contenus dans l'épiplasme semblent être plus grands et entièrement colorés. Ces noyaux deviennent de plus en plus petits ; ils peuvent se réunir souvent en groupes et ensuite ils disparaissent complètement.

De temps en temps, on peut voir dans les préparations où l'on trouve les plus jeunes stades, des ascopores renfermant un nucléole et un centrosome. Il est difficile de dire si le centrosome joue un rôle ou non pendant la formation de ces ascospores mais nous ne le croyons pas : on ne trouve aucune indication pour le soutenir. D'après ce que nous avons pu constater, il semble que les ascopores se forment par la condensation du plasma autour des noyaux comme c'est le cas pour les Exoascées.

Les ascospores s'arrondissent au fur et à mesure qu'elles grandissent (fig. 4, Pl. II). Mais elles restent toujours plus ou moins aplaties d'un côté. Finalement, elles se recouvrent d'une membrane et prennent leur forme caractéristique (fig. 5, Pl. II). Elles ne possèdent qu'un noyau. C'est une exception très rare que de rencontrer une ascopore à deux noyaux.

Les ascospores possèdent une forme analogue à celle de certains *Saccharomycetaceae et Endomycetaceae* ; une fois formées, elles sont entourées par l'épiplasme qui, dans ce stade final, paraît homogène. On ne trouve plus trace des noyaux dégénérés. Les ascospores sont ensuite déchargées avec l'épiplasme au dehors et laissent la place pour la formation d'un nouvel asque.

La cellule sous-jacente peut commencer sa transformation en asque avant que l'asque, qui doit être remplacé par elle, ait achevé son évolution. A cause de ce développement précoce, on trouve dans de telles cellules deux séries de noyaux.

Dans certains cas,l'asque qui doit succéder à un autre se forme latéralement au lieu de prendre la même direction que le précédent (fig. 1, Pl. III).

De tels cas semblent nous indiquer qu'il faut attribuer surtout aux forces osmotiques à l'intérieur de l'asque, le phénomène de son déchargement. Dans le cas concret que nous avons décrit, on ne peut attribuer aucun rôle à la pression exercée à la base d'un asque mûr par un jeune asque qui se trouve en voie de formation. En outre on constate que la membrane de l'asque devient avec l'âge, de plus en plus épaisse surtout vers le sommet où se forme sur le côté intérieur une sorte de papille. C'est l'endroit où la membrane va être perforée au moment du déchargement des ascospores (fig. 5, Pl. II).

Cette évolution des noyaux dans les asques, telle que nous l'avons exposée est typique, mais il y a aussi des exceptions.

I. Nous avons indiqué que le noyau double fournit les noyaux des ascospores, tandis que les autres vont dégénérer. Pourtant quelques noyaux qui proviennent du noyau double peuvent dégénérer eux aussi. A la suite d'incidents, dont nous ne pouvons pas déterminer la cause, certains noyaux de la première série cessent de se diviser. Peut-être s'agit-il d'un simple retard dans la division. Quoi

qu'il en soit, de pareils noyaux semblent être incapables de devenir un centre autour duquel s'organise la spore. On les trouve encore dans l'épiplasme quand les ascospores sont déjà formées (fig. 2, Pl. III). La forme de ces noyaux ne laisse aucun doute sur leur caractère. Ils sont destinés fatalement à la dégénérescence et à la disparition.

II. M[lle] Popta a déjà mentionné dans son travail certaines anomalies dans le développement des asques. Ce sont les cas tératologiques où l'asque sous l'influence d'une excitation extérieure (par exemple un éclairage brusque et puissant) subit une irritation qui peut entraîner également une bipartition du sac sporifère. Il s'agit évidemment d'une réorganisation intérieure, au moyen de laquelle se rétablit l'équilibre à l'intérieur de l'asque. Si l'excitation se prolonge pendant un certain laps de temps, le jeune asque dégénère sous l'influence de cette excitation extérieure c'est-à-dire qu'il arrête son développement.

Dans nos préparations, nous avons observé des phénomènes semblables. Le jeune asque forme au sommet une boule (fig. 3, Pl. III), qui grossit (fig. 4, Pl. III) et finalement se sépare du reste par une cloison (fig. 5, Pl. III). Dans les cellules ainsi formées, on trouve deux séries de noyaux parce que la fusion a lieu avant la formation de la cloison. Cela nous indique nettement que ce sont des cas tératologiques. Le développement normal du sac sporifère a été empêché. Lohwag avait (**101**) déjà remarqué avant nous ces cellules, mais il les assimilait à des « *Dauerzellen* » (1). Ces cellules terminales sont-elles capables de former des spores ? Nous ne le croyons pas. Mais il faut avouer qu'il est difficile de dire ce qu'elles deviennent plus tard. Quant à la cellule inférieure, elle reprend peu à peu l'aspect d'une cellule végétative.

La germination des ascospores. — Si l'on ensemence les ascospores sur milieu à la gélose, en boîtes de Petri,

1. Kystes ou cellules de conservation.

la germination se produit dans un délai de 36 heures. La figure 3, page 24 nous montre les différents stades de la germination. L'ascospore peut germer en n'importe quel point, avec un tube germinatif où s'engage et se divise le noyau de la spore. Bientôt le tube germinatif subit le cloisonnement et se transforme en mycélium de telle sorte que les cellules du mycélium sont polyénergides de bonne heure. Le mycélium qui provient des ascospores a un diamètre plus faible que celui des conidies. Aussi les asques sont plus petits. Nous pouvons conclure que le diamètre du mycélium et la grandeur des asques sont variables. Quant aux ascopores, leur forme est typique, leur grandeur est constante et elles se forment toujours de la manière que nous avons décrite. Nous mentionnons encore que nous avons employé comme point de départ pour nos cultures une seule ascospore ou une seule conidie. Ces cultures ont été faites à plusieurs reprises.

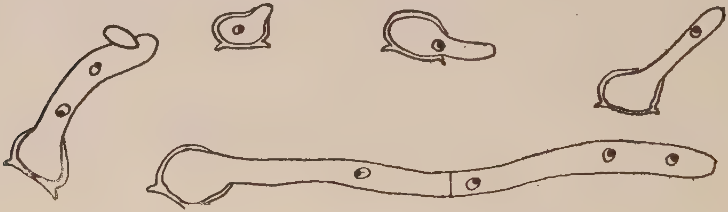


Fig. 3. — *Ascoidea rubescens*. Germination des spores.

B. Étude du cytome chez l'*Ascoidea rubescens*

Introduction. — Avant d'exposer nos observations sur le cytome chez l'*Ascoidea rubescens*, il nous semble utile de dire quelques mots en général sur cette formation.

On suppose que le cytome est un élément constitutif de la cellule végétale et il existe un grand nombre de travaux à propos de cette formation qu'on désigne également sous le nom de chondriome. On peut facilement mettre en

évidence ces mitochondries avec les méthodes dites « mitochondriales ». Ils ont été considérés comme une formation bien caractérisée surtout au point de vue histochimique, formation que l'on trouve aussi bien dans les cellules animales que dans les cellules végétales. Mais à la suite de nombreuses recherches, on s'est aperçu qu'il est nécessaire de faire la distinction entre les éléments qu'on peut mettre en évidence avec les méthodes « mitochondriales ». Un pas décisif dans cette direction a été fait par P.-A. Dangeard. Il a étudié ces éléments dans les cellules végétales.

Dans son travail sur *Selaginella Kraussiana* (**37**) il a démontré clairement que, chez les plantes, il s'agit de deux séries d'éléments différents. Cette différence consiste principalement dans leur évolution et dans leur rôle. Les uns sont les plastes, les autres sont les mitosomes. D'après lui la cellule végétale possède alors le plastidome et le cytome. Les Champignons qui sont dépourvus de chlorophylle n'ont que le cytome. Si l'on emploie la terminologie « mitochondriste » on peut parler chez les plantes de mitochondries actives et de mitochondries inactives. Mais à quoi correspond exactement le chondriome des cellules animales, cela reste encore à voir.

Bien que la distinction précise de ces éléments ait été établie en plastidome et en cytome, on constate que certains cytologistes continuent à employer indifféremment le terme de mitochondrie pour ces deux formations. Ce fait curieux s'explique d'ailleurs fort bien si l'on considère que le mot « mitochondrie » est très usité. Personnellement il nous semble que la distinction en mitochondries actives et inactives n'ajoute rien à la distinction fondamentale entre cytome ou chondriome et plastidome.

Du fait qu'on trouve le cytome un peu partout dans les cellules végétales, la question se pose de sa permanence et de son origine. A cet égard on se trouve en présence de trois opinions principales.

1. Le cytome est une formation constitutive de toutes les cellules végétales qui se transmet d'une génération à l'autre sans naître de nouveau, c'est-à-dire qu'il est constant.
2. Le cytome naît de nouveau.
3. Le cytome subit dans certains périodes de l'évolution une modification qui empêche de le mettre bien en évidence.

Evidemment il est difficile de distinguer le cytome dans tous les stades d'évolution d'un asque, comme nous avons eu l'occasion de le constater au cours de nos recherches sur les Ascomycètes. Mais cette question n'entre pas dans le cadre des recherches que nous nous sommes proposées. Si nous consacrons malgré cela une large partie au cytome, c'est parce que nous nous sommes rendu compte que l'*Ascoidea rubescens* est une espèce de choix pour une étude de cette nature. En effet ce Champignon nous a permis de suivre pas à pas toutes les modifications que le cytome subit au cours du développement de cette espèce.

En outre, le sac sporifère chez *Ascoidea rubescens* est particulièrement favorable pour l'étude de l'évolution du cytome parce que :

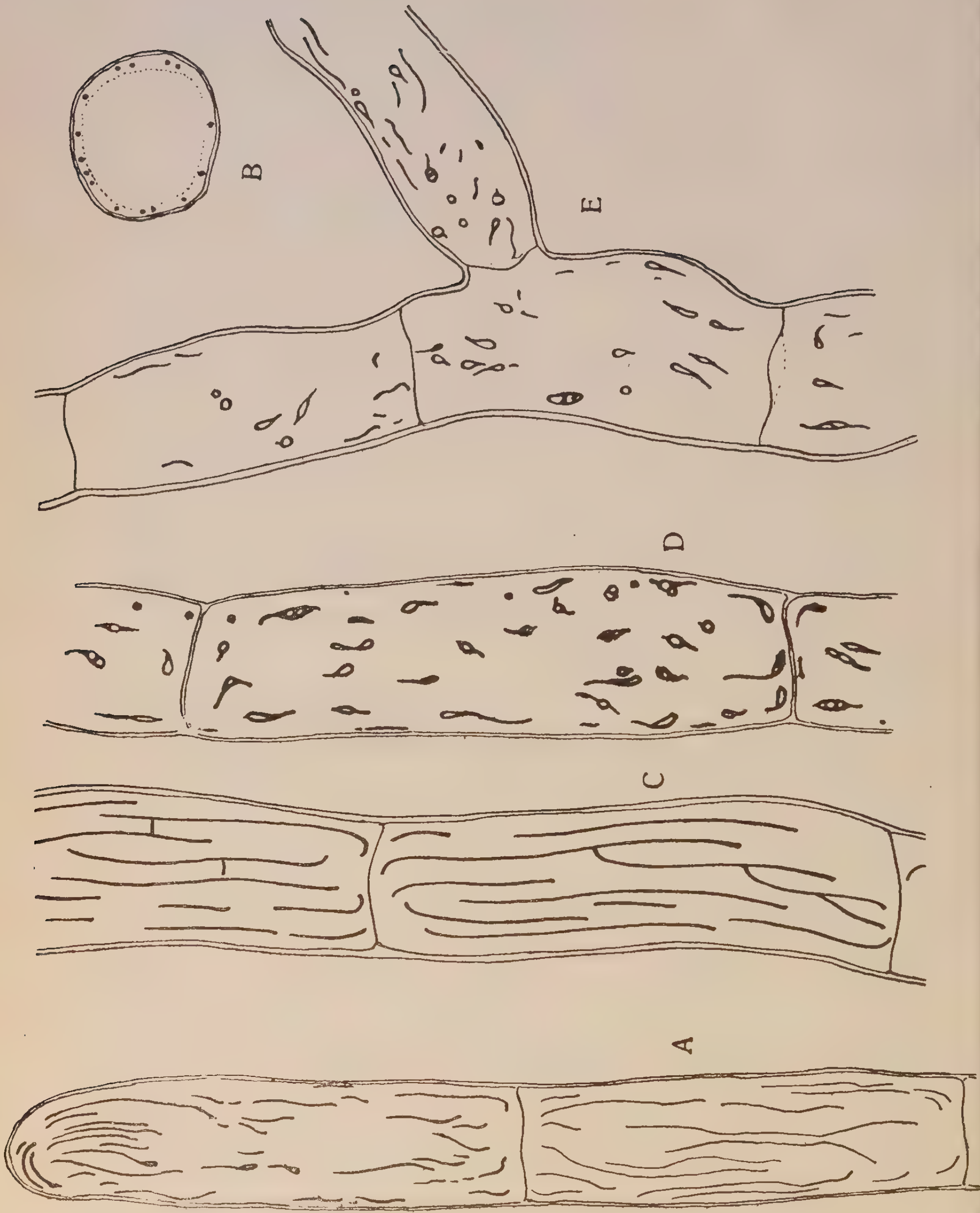
1. Le cytome est très important dans cette espèce.
2. L'asque et les ascospores sont hyalines et possèdent une dimension tellement favorable qu'on peut facilement observer le cytome dans les préparations les plus fines.
3. Le cytome dans les asques présente plusieurs stades caractéristiques. On peut établir la chronologie exacte de ces différents stades d'après l'évolution des noyaux dans l'asque et la formation des ascospores. Par conséquent, dans le cas présent, on peut examiner cette formation dans des conditions particulièrement favorables, que l'on ne retrouve pas quand on examine le cytome dans les cellules-mères du pollen chez les Angiospermes.

4. Finalement, il est impossible de confondre les éléments du cytome avec ceux du plastidome étant donné que chez *Ascoidea rubescens*, le plastidome est absent comme c'est le cas chez tous les autres Champignons. C'est un avantage qui n'est pas négligeable.

Observations vitales. — Si l'on examine les cellules vivantes de l'*Ascoidea* sous le microscope avec un fort grossissement, on voit dans le plasma les filaments allongés qui sont très réfringents. Cette propriété du cytome facilite les observations *in vivo* et nous n'avons pas eu besoin de recourir aux colorations vitales.

Cette formation a été déjà observée chez l'*Ascoidea* par Mlle Popta qui parle d'une *streifige Structur* du plasma. Cette *structure striée* correspond en réalité à ce qu'on désigne aujourd'hui sous le nom de cytome. Cela peut facilement se vérifier sur les préparations fixées et colorées. Dans les asques, on ne peut pas observer le cytome à cause de l'abondance des gouttelettes graisseuses qui sont très réfringentes. De plus il subit dans les asques une transformation caractéristique. C'est aussi une des causes pour lesquelles Mlle Popta n'a pas vu dans les asques la *structure striée* du plasma.

Les observations postvitales. — Le matériel qui nous a servi pour faire les préparations a été fixé et inclus à la paraffine. Comme fixateur nous avons employé le Regaud IV avec postchromisation. Les coupes ont été faites au microtome à des épaisseurs différentes. Nous avons constaté qu'il était absolument nécessaire de faire les coupes de deux μ d'épaisseur. Autrement la coloration à l'Hématoxyline ferrique ne réussissait pas bien. De cette manière on peut obtenir des préparations de toute beauté. Dans les cellules végétatives du mycélium en pleine croissance, le cytome se présente sous la forme de cordons très allongés (mitosomes). Ces cordons sont rarement ramifiés


B
E
D
C
A

ou anastomosés entre eux (fig. 4, A, pag. 28), et dans la cellule terminale ils semblent être plus vigoureux. Ils se trouvent dans la couche pariétale du plasma comme on peut les voir dans les coupes effectuées dans le sens perpendiculaire du mycélium (fig. 4, B). Dans les cellules âgées qui possèdent un diamètre plus grand, ils ne sont pas aussi serrés que dans les jeunes cellules. Leur aspect est modifié et les cordons ne sont pas aussi longs. Ils sont souvent ramifiés et anostomosés en forme d'H (fig. 4, C). Les cordons montrent assez souvent de petites vésicules, qui se trouvent rarement dans les cellules jeunes. Par contre dans les cellules très âgées qui sont déjà atteintes par la nécrose, le cytome présente les signes nets d'une dégénérescence. Ici on trouve les courts bâtonnets qui sont souvent renflés et forment les vésicules (fig. 4, D et E). On voit alors que la forme du cytome change avec l'âge de la cellule. Dans les préparations on voit aussi que les cordons qui sont d'abord très longs se fragmentent, et c'est ainsi que se forment des bâtonnets plus ou moins longs.

D'où provient le cytome du jeune mycélium ? Nous pouvons répondre tout de suite : Le cytome chez *Ascoidea rubescens* se transmet d'une génération à l'autre par les conidies et les ascospores.

Pour donner les détails de la transmission de ces éléments d'une génération à l'autre, nous allons décrire le cytome des conidies et celui des asques.

Le cytome des conidies. — Nous avons déjà rendu compte de la formation et de la germination des conidies. Ces phénomènes n'étaient connus qu'au point de vue morphologique. Ici nous voulons parler du cytome.

Dans les ébauches des jeunes conidies qui sont remplies de plasma on voit pénétrer les cordons du cytome (fig. 5 ; pag. 30). Au fur et à mesure que la jeune conidie augmente de volume, elle se remplit de cytosomes, qui sont

plus ou moins parallèles. Ils sont situés dans la couche pariétale du plasma. A un moment donné, on constate que les cordons sont interrompus à la hauteur de la future base de la conidie. Peu après apparaît la membrane qui délimite la conidie par rapport au conidiophore. C'est



Fig. 5. — *Ascoidea rubescens*. Cytome dans les conidies en voie de formation.

ainsi que se constitue le cytome des conidies. Dans les conidies plus âgées, il n'est pas distribué d'une manière aussi régulière que dans les conidies jeunes. Pendant la germination des conidies le cytome s'accroît et pénètre dans le tube germinatif. Voilà le procédé par lequel les futures cellules végétatives du mycélium sont dotées de cytome.

Le cytome de l'asque et son évolution. — Comme complément nécessaire à ce que nous allons dire sur l'évolution du cytome dans les asques, nous donnerons un certain nombre de figures. On remarque tout de suite qu'il existe une différence entre ces figures et celles que nous avons données pour illustrer l'évolution des noyaux, en ce sens, que dans le premier cas la grandeur des asques semble être plus régulière que dans le second.

Pourtant ce fait s'explique facilement. D'abord on sait que la grandeur des ascopores chez *A. rubescens* est constante, par contre les asques peuvent varier assez sensiblement. Ensuite si l'on envisage un de ces asques dans sa jeunesse, on constate que jusqu'à la maturation des ascospores, il devient progressivement de plus en plus grand. En tenant compte de ces faits nous avons choisi avec intention parmi les asques, dans nos préparations, ceux qui présentent les différents stades successifs de l'évolution des noyaux, mais qui sont en même temps de plus en plus grands pour montrer ce qui se passe dans la réalité. En se qui concerne le choix des figures représentant l'évolution du cytome, il était impossible d'appliquer ce procédé, parce que nous avons été obligé de tenir compte uniquement de l'aspect du cytome. C'est pour cela qu'on trouvera à côté d'asques relativement petits d'autres qui sont deux fois plus grands, ainsi que des asques coupés dans différentes directions.

Pour bien apprécier l'évolution du cytome dans l'asque nous rappelons ici quelques faits déjà connus. L'asque chez *Ascoidea rubescens* a une formation tantôt terminale tantôt latérale. Une fois mûr, l'asque décharge ses ascospores avec l'épiplasme au dehors et est remplacé par un autre et ainsi de suite. Autrement dit les asques peuvent se former en séries. La cellule sous-jacente peut commencer sa transformation en asque avant la décharge de l'asque précédent. Dans ce cas, le cytome a déjà subi une certaine modification comme nous allons le voir. C'est

pour cela qu'il faut d'abord porter notre attention sur le premier asque de la série. Dans un jeune asque de cette sorte le cytome est bien visible. Il est constitué par les cordons vigoureux plus ou moins parallèles entre eux. On trouve rarement des vésicules et en général on peut dire que le cytome du jeune asque ressemble tout à fait au cytome d'une jeune cellule végétative. Il se trouve situé dans la couche pariétale du plasma. Les coupes du jeune asque effectuées dans le sens perpendiculaire sont particulièrement instructives, car elles montrent nettement la répartition du cytome dans la cellule. Le cytome se présente dans ces préparations sous forme de granules parce que les éléments de cette formation sont découpés perpendiculairement à sa plus grande longueur (fig. 6, pag. 32).

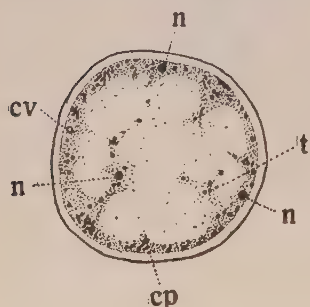


Fig. 6. — *Ascoidea rubescens.* Sac sporifère coupé perpendiculairement à sa plus grande longueur. Le cytome se présente sous forme de granules et de courts bâtonnets (*cp*, couche pariétale du plasma qui renferme la plus grande partie des éléments du cytome ; *cv*, cytosome en forme de vésicule ; *n*, noyau, ; t, trabécule protoplasmique avec les éléments du cytome).

Mais bientôt cette formation va subir une transformation caractéristique comme nous allons le voir. Les cordons du cytome se fragmentent et forment les cordons plus ou moins longs. Leur épaisseur est la même que celle des longs cordons. En même temps on remarque l'apparition de nombreuses vésicules. Après ce stade que nous appelons volontairement avec Wagner « *vésiculaire* » on constate que les filaments du cytome sont devenus beaucoup plus fins.

Cette évolution peut être abrégée chez les asques qui succèdent à celui qui est le premier de la série. Il est vrai qu'un pareil asque peut avoir au commencement un cytome ressemblant presque complètement à celui des cellules végétatives (fig. 1, Pl. IV), mais le plus souvent

cette formation est un peu modifiée comme nous l'avons déjà indiqué (fig. 2 et 5, Pl. IV). Cette modification se produit à la suite d'une transformation précoce de la cellule végétative en asque qui va remplacer le précédent. La figure 3, pl. IV nous représente un de ces cas. On voit un asque mûr qui est déjà presque vide et au-dessous duquel se trouve la cellule qui va devenir l'asque. Dans la couche pariétale du plasma de cette cellule, on voit le cytome qui a commencé sa transformation. Ce processus est déjà assez avancé au moment où la cellule commence à croître pour former un nouvel asque (fig. 2, Pl. IV).

Pendant ce temps l'asque est devenu plus riche en protoplasma qui devient réticulé. On trouve alors aussi le cytome dans les trabécules protoplasmiques, par conséquent un peu partout dans l'asque et principalement à proximité des parois (fig. 4, Pl. IV). On peut voir très bien cela dans nos figures 1 et 2 planche V. La première de ces deux coupes longitudinales est faite non loin des parois (fig. 1) tandis que la seconde a passé tout près des parois (fig. 2). C'est pour cela que dans le premier cas le cytome n'est pas aussi abondant que dans le second. Beaucoup de ces éléments possèdent encore des vésicules mais en général, les filaments sont devenus encore plus fins qu'ils n'ont été auparavant. Bientôt le cytome dans l'asque est constitué seulement par ces filaments. Si la coupe a été faite un peu obliquement ces filaments apparaissent dans la préparation plus courts qu'ils ne sont en réalité (fig. 5, Pl. V). On voit alors que le cytome après avoir traversé le stade « *vésiculaire* » prend aspect de fins filaments plus ou moins courts qui peuvent être aussi légèrement courbés ou infléchis. On peut avoir simultanément ces différents stades de l'évolution du cytome, si l'on obtient dans la préparation une partie du filament qui porte le jeune asque (fig. 3, 4, Pl. V). Ils sont à tel point caractéristiques qu'on peut bien les distinguer même si l'on dessine seulement le cytome sans tenir compte de la

membrane cellulaire (fig. 4, Pl. V). La partie *a* appartient à l'asque, *b* à la cellule végétative qui commence sa transformation en asque, *c* à la cellule végétative en pleine croissance ; elle possède un cytome normal en forme de longs cordons vigoureux.

Nous mentionnons encore que la figure 6, planche IV nous montre le cytome pendant la division des noyaux. Les fuseaux sont très mal conservés à cause de la fixation au Regaud. Mais on constate que ces phénomènes nucléaires n'ont aucune influence visible sur le cytome.

La description de l'évolution ultérieure du cytome présente certaines difficultés. Les éléments du cytome sont dispersés un peu partout dans le plasma et orientés au hasard (fig. 1 et 2, Pl. VI). Ils seront forcément découpés de différentes manières d'après leur position par rapport au plan de la section. Cette différence est d'autant plus accentuée que la préparation doit être très mince. Par conséquent, quand on trouve un granule, on ne peut pas affirmer avec certitude que c'est un sphérosome, parce qu'il se peut très bien qu'il s'agisse simplement d'un filament découpé perpendiculairement. Pourtant il faut bien reconnaître que parmi ces filaments, il s'en trouve aussi qui présentent certainement les signes d'une désagrégation en granules. C'est un aspect du cytome bien connu, souvent trouvé et dessiné par les auteurs dans différents matériaux. En outre on trouve des granules disposés en chapelets, ce qui semble confirmer l'hypothèse de la désagrégation des filaments en sphérosomes (fig. 3, Pl. VI). La figure 4, planche VI est intéressante parce qu'elle montre une préparation dans laquelle tous les éléments du cytome semblent être représentés par des sphérosomes. D'après ce que nous avons dit jusqu'à présent, il est clair que cet aspect ne correspond pas tout à fait à la réalité. C'est pour cela que nous pouvons dire que nos connaissances sur l'évolution du cytome pendant cette période laissent à désirer. Nous croyons bien qu'une partie

du cytome peut se transformer en granules, mais le reste garde sa forme filamenteuse, comme on le verra au moment de la formation des ascospores. A ce moment là, les cytosomes se ramassent autour des noyaux issus du noyau double, qui sont devenus les centres de formation de futurs ascospores (fig. 5, Pl. VI). Les embryons des ascospores sont filiformes au moment le plus jeune de leur formation, dès qu'elles se manifestent. La totalité du cytome se trouve répartie entre ces embryons, de telle sorte qu'on ne trouve plus les éléments de cette formation dans l'épiplasme (fig. 6, Pl. VI). Ici le cytome se présente sous forme de courts filaments très fins et de granules qui sont probablement les filaments découpés. Il peut arriver de temps en temps que quelques-uns de ces éléments restent en dehors, dans l'épiplasme. Dans ce cas là ils vont dégénérer et disparaître dans le plasma. Les figures 7, pl. VI, et 1, 2, 3 ; pl. VII, représentent les différents stades de la formation des ascospores jusqu'à leur maturation complète. Pourtant l'aspect du cytome à leur intérieur ne change plus ; il est le même que dans les embryons des ascospores. La figure 4, planche VII représente un asque qui a déchargé ses ascospores et son épiplasme.

Quand l'ascospore germe, elle forme un tube germinatif qui se transforme plus tard en mycélium. Son cytome se forme aux dépens de celui de l'ascospore.

En résumé nous pouvons dire que le cytome de l'asque se transmet par les ascospores à une nouvelle génération.

Son comportement pendant la formation des ascospores indique clairement qu'il est vraiment un élément constitutif de la cellule, d'autant plus que, dans le cas contraire, on ne pourrait pas expliquer sa transmission régulière d'une génération à l'autre. Quant au rôle de cette formation dans la vie cellulaire, il est difficile de se prononcer pour le moment, étant donné que nous n'avons trouvé aucune indication précise qui serait capable de nous fournir une explication satisfaisante.

CHAPITRE II

La position systématique de l'*Ascoidea rubescens* et les prétendues relations de ce Champignon avec les groupes voisins.

Introduction. — Dans les lignes qui vont suivre nous allons exposer nos conceptions sur la position systématique de l'*Ascoidea rubescens* et sur les prétendues relations de ce Champignon avec les groupes voisins, comme nous les comprenons. Forcément nous allons nous occuper de considérations phylogénétiques. C'est pour cela que nous croyons utile de nous expliquer ici à cet égard.

A la base de toutes les spéculations phylogénétiques on trouve l'idée de l'évolution qui de son côté échappe presque complètement à nos observations immédiates. Mais on peut ranger les organismes vivants dans des séries plus ou moins continues et progressives. En outre on peut trouver les transitions entre ces séries ce qui nous laisse entrevoir le chemin parcouru par l'évolution. Pourtant il faut reconnaître que, dans ce procédé il y aura toujours de l'arbitraire. A cause de cela nous nous rendons parfaitement compte de la fragilité des spéculations de cette nature. Mais les faits constatés jusqu'à présent et les conclusions qu'on peut tirer de ces faits sont telles que nous ne pouvons pas rester indifférent à cet égard.

Ces considérations conduisent à des problèmes d'ordre général. Nous ne voulons pas reculer devant ces problèmes, au contraire nous tâcherons de les résoudre dans la mesure du possible. S'ils ne sont pas toujours faciles à résoudre d'une manière tout à fait satisfaisante, par contre on peut

les préciser davantage et ainsi faciliter les solutions futures.

Ce chapitre est également divisé en plusieurs parties comme le chapitre précédent.

Hemiasci. — Quand on consulte certains livres mycologiques, il semble que la position systématique de l'*Ascoidea rubescens* a été déjà définitivement fixée. Nous ne sommes pourtant pas du même avis parce qu'on a méconnu jusqu'alors la véritable nature du sac sporifère chez l'*Ascoidea rubescens* et on opère souvent avec des notions qui ne sont pas toujours très précises.

Comme nous le savons déjà, Brefeld a rangé cette espèce parmi les *Hemiasci*. D'après lui ce groupe est constitué par les Champignons qui sont intermédiaires entre les Phycomycètes et les Ascomycètes possédant les sporanges qui ressemblent aux asques.

N'oublions pas que Brefeld fait dériver les asques des sporanges comme il fait descendre les basides des conidiophores. Il croit même avoir trouvé les formes intermédiaires (*Mesomyceten*, voir le tableau à la page 38) possédant d'une part des sporanges ressemblants aux asques (*Hemiasci*) et d'autre part des conidiophores ressemblants aux basides (*Hemibasidii*). Parmi les *Hemiasci* il distingue trois types principaux et à chaque type correspond une famille (*Ascoideen*, *Protomyceten*, *Theleboleen*). Le mycélium chez les *Hemiasci* est cloisonné comme celui des Ascomycètes. Leurs sporanges sont plus proches des sporanges des Phycomycètes que des asques des Ascomycètes. Mais ils se distinguent des premiers par le fait que la forme de leurs sporanges et des spores est devenue plus caractéristique et moins variable. En somme nous pouvons résumer ainsi les caractères de ce groupe d'après Brefeld. En ce qui concerne les organes de reproduction, les *Hemiasci* correspondent aux Phycomycètes, tandis que la structure des organes végétatifs indique une affinité avec les Ascomycètes.

TABLEAU DES FORMES INTERMÉDIAIRES D'APRÈS BREFELD :

MESOMYCETEN
(Zwischenformen)

HEMIASCI

Ascen-ähnliche Sporangien

exohemiasci — carpohemiasci

Ascoideen (Ascoidea) — *Protomyceten* (Protomyces) — *Theleboleen* (Thelebolus)

HEMIBASIDII

Basidien-ähnliche Conidienträger.
Conidienträger

Protobasidien-ähnlich: *Ustilagieen* (Ustilago, etc.) — Autobasidien-ähnlich: *Tilletieen* (Tilletia, etc.)

MYCOMYCETEN
(Höhere-Pilze)

ASCOMYCETEN
Sporangien in Ascen.

→ *Exoasci* — *Carpoasci* ←

BASIDIOMYCETEN
Conidienträger in Basidien.

→ *Protobasidiomyceten* — *Autobasidiomyceten* ←

Brefeld prévoit que le nombre d'*Hemiasci* augmentera avec le progrès de nos connaissances. Nous allons donner quelques détails à cet égard. En 1892, Lagerheim a décrit *Dipodascus albidus* (**97**). Plus tard (1895), Went a étudié *Monascus purpureus* qui a été trouvé par D[r] Vordermann à Batavia dans l'Ang-Quac. Il a classé ce Champignon parmi les *Hemiasci* (**140**). Dans « Engler-Prantl ; *Die natürlichen Pflanzenfamilien* » (I. Teil 1. Abteilung pag. 145, 1897), Schröter divise les *Hemiasci* ainsi.

I. *Ascoideaceae*
  1. *Ascoidea*
  2. *Dipodascus*

II. *Protomycetaceae*
  1. *Protomyces*
  2. *Endogone*

III. *Monascaceae*
  1. *Monascus*
  2. *Helicosporangium*
  3. *Papulaspora.*

Cet auteur a du reste sur ce groupe de Champignons les mêmes idées que Brefeld.

En 1898 la liste d'*Hemiasci* s'accrut encore, Holtermann ayant décrit *Ascoidea saprolegnioides*, *Oscarbrefeldia pellucida* et *Conidiascus paradoxus.* Cet auteur est très sceptique à l'égard des spéculations de Brefeld, ignorant tout en outre de l'évolution nucléaire chez ces Champignons (**89**). En 1907, Juel a décrit un nouveau genre : *Taphridium.* Il l'a placé parmi les *Hemiasci* (**91**).

Après cela on a vraiment l'impression que la prévision de Brefeld sur l'élargissement du groupe des *Hemiasci* s'est accomplie.

Mais en réalité on a cette impression seulement parce qu'on a méconnu la véritable nature des asques et des sporanges. Pour Brefeld, l'asque est un sporange qui est devenu constant dans sa forme, sa grandeur et le nombre des spores.

Mais depuis ce temps, on a obtenu des éléments nouveaux capables de définir et d'interpréter l'asque d'une manière plus exacte. Nous mentionnons seulement en passant que Brefeld ne savait rien à cette époque de l'évolution des noyaux dans les asques, et de la fusion dangeardienne qui précède la formation des noyaux des futures ascospores. Il n'a donc connu ni le véritable caractère de l'asque, ni les différences profondes qui existent entre l'asque et le sporange. Par conséquent l'hypothèse de la dérivation des asques à partir des sporanges telle qu'elle était conçue par lui est dénuée de fondement et les *Hemiasci* au sens Brefeld n'ont plus aucune raison d'être.

Pourtant ce nom a persisté dans la littérature botanique avec des chances différentes. P.-A. Dangeard qui a contribué précisément le plus à approfondir nos connaissances sur l'asque, s'exprime ainsi à propos des Hemiasci (**32**, page 255) : « Nous conservons cette dénomination d'*Hemiasci* établie par Brefeld, en lui donnant un sens précis : *nous rangerons dans cette catégorie tous les genres qui possèdent des sporanges asexuels, donnant naissance à des spores immobiles.* » Nous remarquons encore qu'il a rangé dans cette catégorie aussi *Ascoidea rubescens*. Par conséquent ce Champignon est d'après lui un Phycomycète.

En 1907 il a semblé que les *Hemiasci* allaient sombrer définitivement. C'est Lotsy, adversaire déclaré des idées de Brefeld, qui s'acharnait dans ses leçons sur la phylogénie botanique contre ce groupe de Champignons. Nous pouvons lire à la page 441 de son livre intitulé : *Vortäge über botanische Stammesgeschichte* : « Wir haben schon früher betont, dass uns Brefelds Auffassung der Sporenschläuche der *Hemiasci* als Zwischending zwischen Sporangien und Asci nicht einleuchtet, und wir haben nicht umhin gekonnt, seine Argumente als schwache zu bezeichnen.

Es wäre aber offenbar möglich, dass spätere Untersuchungen über die *Hemiasci* Brefelds Meinungen mehr

annehmbar gemacht hätten, sehen wir also ob dies der Fall ist, und stellen wir uns zu gleicher Zeit die Frage, ob die *Hemiasci* überhaupt als Vorläufer der *Ascomyceten* betrachtet werden dürfen ». Ensuite il critiqua et combattit l'un après l'autre tous les représentants des *Hemiasci*. Finalement il arriva à cette conclusion (**103**, page 449) : « Ich glaube, dass aus dem Vorhergehenden wohl zur Genüge hervorgeht, dass Brefelds Gruppe der *Hemiasci* ein mixtum compositum sehr heterogener Formen ist und dass Brefelds Homologisierung von Ascus und Sporangium unrichtig ist ; die neueren cytologischen Untersuchungen haben, meiner Meinung nach, die Unhaltbarkeit von Brefelds Auffassungen über die *Ascomyceten* endgültig bewiesen ».

Nous retenons encore ici ce qu'a dit Lotsy à propos de l'*Ascoidea rubescens*. En s'appuyant sur le travail dû à Mlle Popta, il nia toutes les parentés supposées entre ce Champignon et les autres Ascomycètes. Il le considère comme un Siphomycète (**103**, page 443): « ... dessen nähere Verwandtschaft aber vorläufig noch nicht festgestellt werden kann, von welcher man aber ruhig behaupten kann, dass sie mit *Ascomyceten* nichts zu tun hat ; und da sie mit diesen auch nicht einen einzigen Punkt gemeinsam hat, schwerlich als Uebergang zu den *Ascomyceten* betrachtet werden kann ».

On voit alors que Lotsy et Dangeard ont été à peu près du même avis, à savoir que l'*Ascoidea rubescens* est un *Phycomycète*. Ainsi il est devenu clair qu'il est impossible de soutenir la conception de Brefeld sur les *Hemiasci*.

Ward H. M. et Blackman V. H. s'expriment ainsi sur les *Hemiasci* dans un article sur les Champignons paru quelques années plus tard (**139**, page 339) :

« The group of the Hemiasci was founded by Brefeld to include forms which were supposed to be a connecting link between Phycomycetes and Ascomycetes. As mentioned before, the connexion betwen these two groups is very

doubtful, and the derivation of the ascus from an ordinary sporangium of the Zygomycetes cannot be accepted. The majority of the forms which were formerly included in this group have been shown to be either true Phycomycetes (like *Ascoidea*) or true Ascomycetes (like *Thelebolus*). *Eremascus* and *Dipodascus*, which are often placed among the Hemiasci, possibly do not belong to the Ascomycetes series at all ».

On voit que cette opinion n'est pas très favorable à ce groupe de Champignons créé par Brefeld.

En 1921 Juel s'exprime ainsi sur les *Hemiasci* (**92**, page 31):

« Die Abteilung Hemiasci umfasst nach meiner Auffassung die primitiven Typen der Mycomyceten, die wahrscheinlich den Phycomyceten am nächsten stehen, obgleich es ziemlich unklar ist, aus welcher oder welchen Ordnungen unter den letzteren sie hervorgegangen sind. Von den eigentlichen Askomyceten unterscheiden sich die Hemiasceen dadurch, dass ihre Sporangien oder Asken direkt am Mycel entstehen, während bei den Askomyceten Fruchtkörper mit askogenen Hyphen gebildet werden. Zwischen Sporangien und Asken dürfte bei den Hemiasceen kein prinzipieller Unterschied zu machen sein. Man nennt diese Organe Sporangien, wenn sie von Anfang an mehrkernig sind und zahlreiche Sporen erzeugen, Asken wenn sie anfangs nur ein Kernpaar enthalten, und nur acht oder weniger Sporen erzeugen. Die Asken dürften aber aus den Sporangien durch eine Reduktion in Bezug auf die Zahl der Kerne und Sporen hervorgegangen sein.

Die Abteilung Hemiasci möchte ich vorläufig in drei Verwandtschaftkreise teilen. Den ersten bildet allein die Gattung *Ascoidea*, den zweiten *Dipodascus*, die Endomycetaceen und dis Saccharomyceten, den dritten die Protomycetaceen und die Exoasceen. Ob *Ascoidea* mit irgend einer der anderen Reihen verwandt ist oder nicht, scheint mir ganz unklar, da die Cytologie dieser Gattung noch unvollständig bekannt ist. Zwischen den beiden übrigen

Reihen bestehen ohne Zweifel nur entfernte verwandtschaftliche Beziehungen. Eine natürliche Abteilung der Pilze stellen also die Hemiasci nicht dar, ebensowenig als, z. B., die Abteilungen Zygomycetes oder Chytridinae ».

En 1926 dans sa Morphologie comparée des Champignons, Gäumann emploie la désignation d'*Hemiasci* comme synonyme de *Protascineen*. Pour lui ce sont les Champignons : « ... bei welchen die Dikaryophase noch fehlt und bei welchen also aus den Sexualzellen als das Produkt des Sexualasktes unmittelbar ein Ascus hervorgeht..., (**64**, page 134) ». Le groupe ainsi défini est devenu très grand et il le divise comme suit :

Sous-classe : *Hemiasci*

- A. Ordre : *Endomycetales*
  - I. Famille : *Dipodascaceae*
  - II. Famille : *Endomycetaceae*
    - 1. Genre : *Eremascus*
    - 2. Genre : *Endomyces*
    - ?. Genre : *Pericystis*
    - ?. Genre. *Ascoidea*
  - III. Famille : *Saccharomycetaceae*
- B. Ordre : *Exoascales*
  - I. Famille : *Protomycetaceae*
  - II. Famille : *Exoascaceae.*

On peut remarquer tout de suite que la position du genre *Ascoidea* n'est pas nette. Il suppose que ce genre doit être rangé dans le voisinage des *Endomycetaceae.* Pour *Ascoidea rubescens* il dit entre autre : « Leider ist der zytologische Entwicklungsgang dieser interessanten Art noch ungenügend bekannt ; wahrscheinlich entwickelt sie sich parthenogenetisch (Brefeld 1891, Popta 1899) » (**64**, page 145).

Dans cette même année Lohwag soutient avec vigueur que l'*Ascoidea rubescens* est un Phycomycète (**101**). Nous ne voulons pas discuter sur ce point avec cet excellent

auteur parce qu'il a eu tort d'avoir négligé complètement l'étude cytologique de cette espèce par les méthodes nouvelles.

Gwynne-Vaughan dans son livre sur la structure et le développement des Champignons (**77**) ne parle plus d'*Hemiasci*. Quant à *Dipodascus*, il se trouve à côté des *Endomycetaceae*.

N'oublions pas de mentionner que E. Fischer avait déjà quinze années auparavant écrit sur *Dipodascus albidus* et *Ascoidea rubescens* ce qui suit :

An die Endomyceten schliesst sich vielleicht auch *Dipodascus* an. Derselbe besitz ein Mycel mit vielkernigen Zellen. An zwei benachbarten Hyphen oder an zwei aneinandergrenzenden Zellen derselben Hyphe entstehen als kurze Seitenzweige dicke, mehrkernige Gameten, die miteinander in offene Verbindung treten und einen langen spitzzulaufenden vielsporigen Ascus bilden. Ebenfalls vielkernig ist der Ascus von *Ascoidea*, nur entsteht derselbe asexuell (parthenogenetisch ?) » (**55**, pag. 896).

Nous pourrions continuer à citer mais cela nous paraît inutile. Ce que nous avons dit jusqu'à présent, est largement suffisant, pour qu'on puisse se former une opinion exacte.

En résumé on peut dire que la dénomination d'*Hemiasci* n'a pas eu toujours le même sens parce qu'on a désigné sous ce nom différents groupes de Champignons plus ou moins hétérogènes. Aussi on peut se demander s'il faut retenir ce groupe parmi les Ascomycètes, bien qu'il soit clair que tel qu'il était défini par Brefeld il n'a plus de raison d'être. Quant à la position systématique de l'*Ascoidea rubescens*, cette question reste toujours ouverte. Pour essayer de répondre à ces questions nous allons nous servir des résultats exposés dans le premier chapitre. Nous dirons encore que nous avons déjà en 1928 communiqué à l'Académie une note dans laquelle ont été exposés nos premiers résultats sur l'évolution nucléaire dans le sac sporifère de l'*Ascoidea*

rubescens (**132**) (1). La même année Guilliermond en parlant de ce Champignon dans un de ses nombreux travaux (**75**) considéra l'*Ascoidea rubescens* comme un Phycomycète. Pourtant il entrevit l'importance de nos résultats mais il reste dans l'expectative en attendant des confirmations plus amples de ce que nous avions avancé.

Comparaison entre *Ascoïdea rubescens* et *Dipodascus albidus*. — Si l'on tient compte de la structure cytologique du sac sporifère chez *Ascoidea rubescens* et de l'évolution nucléaire dans ce sac pendant la formation des spores, on constate que ce Champignon est presque complètement isolé non seulement parmi les Ascomycètes mais encore parmi les autres Champignons que nous connaissons aujourd'hui. Pourtant quand on y regarde de près on voit qu'il existe encore un autre Champignon, mais seulement un pour le moment, qui sans aucun doute peut être rapproché de l'*Ascoidea rubescens*. C'est le *Dipodascus albidus*. Ce rapprochement nous semble tout à fait naturel et dans les lignes qui vont suivre nous allons essayer de justifier cette proposition.

On peut résumer l'évolution nucléaire dans le sac sporifère chez *Ascoidea rubescens* dans ces quatre points.

1. Le jeune asque est originairement polyénergide comme toutes les autres cellules végétatives.

1. Au moment de soumettre à l'impression notre manuscrit nous avons pris connaissance d'un livre de M.-H. Fitzpatrick intitulé : *The Lower Fungi (Phycomycetes)*. A la page 309 on a semblé mettre en doute nos résultats publiés en 1928 dans les Comptes rendus de l'Académie des Sciences (**132**) : On y trouve le passage suivant : « The genus has been inadequately investigated, and accounts based en cytological studies are contradictory (Popta, 1899 ; Lohwag, 1926 ; Varitchak, 1928 ; Walker, 1929). Apparently a fusion of sexual nuclei does not occur, and the spores seem not to be delimited by the astral rays. »

Nous considérons la première partie de notre travail comme la meilleure réfutation des hypothèses qu'a avancées cet excellent auteur à propos de l'*Ascoïdea rubescens*.

2. A un moment donné deux noyaux privilégiés vont se fusionner.
3. Les noyaux des ascospores proviennent de ce noyau double.
4. Les noyaux primaires de l'asque (noyaux inutilisés) peuvent se diviser mais ensuite dégénèrent et disparaissent complètement dans l'épiplasme.

Voici comment se passe l'évolution nucléaire chez *Dipodascus*. D'après les travaux de Lagerheim, Juel, et P.-A. Dangeard, l'asque chez *Dipodascus albidus* prend naissance immédiatement à la suite d'une fusion entre deux gamétanges qui sont polyénergides. Parmi les noyaux de ces gamétanges, qui ne montrent d'abord aucune différence entre eux, deux noyaux entrent en contact, deviennent un peu plus grands et finalement se fusionnent. Le noyau double fournit, après de nombreuses divisions, les noyaux des ascospores, tandis que les autres dégénèrent.

Or on voit que les noyaux se comportent de la même façon dans les sacs sporifères de l'*Ascoidea rubescens* et chez le *Dipodascus albidus* quoique le premier ne possède pas des gamétanges qui se fusionnent comme le dernier.

Cette constatation est très importante parce qu'à notre connaissance, personne jusqu'à présent n'a contesté la reproduction sexuelle chez *Dipodascus*. Aujourd'hui il est généralement admis que les rameaux copulateurs de *Dipodascus* sont des gamétanges et non pas des gamètes, comme l'a pensé Lagerheim, ou des pollinodes et des carpogones d'après Juel. Nous allons anticiper maintenant sur ce que nous allons démontrer dans la deuxième partie de ce travail et nous dirons tout de suite que la fusion des gamétanges chez *Dipodascus* n'a pas la valeur d'une fécondation. Il y a seulement coïncidence entre ces deux phénomènes. Dans la fusion des deux gamétanges chez ce Champignon, il ne faut pas voir une plasmogamie c'est-à-dire une fécondation par plasma.

Ce qui importe, c'est la fusion des gamètes, qui sont

réduits chez *Dipodascus*, comme aussi chez *Ascoidea*, à l'état d'énergides sexuelles. Au point de vue général nous ne pouvons pas attribuer une grande importance à la fusion des gamétanges chez *Dipodascus* parce que les gamètes peuvent être réunies dès le début sous une même membrane. C'est le cas d'*Ascoidea rubescens*. Chez ce Champignon on ne trouve aucun transport des noyaux, ni aucun acte qui pourrait être interprété comme une plasmogamie. Si pourtant celle-ci existe, il est clair qu'elle doit se produire au moment de la fusion nucléaire. Par conséquent le fait qu'on ne trouve pas de fusion des gamétanges chez *Ascoidea rubescens*, comme c'est le cas chez *Dipodascus albidus*, ne modifie nullement l'essence même de la reproduction sexuelle chez ce Champignon. Elle est telle qu'on la connaît depuis longtemps chez *Dipodascus*.

Tenant compte des analogies remarquables que présentent ces deux Champignons aux points de vue :

1. Biologique,
2. De l'organisation générale,
3. De l'évolution des noyaux dans les sacs sporifères,

Nous proposons de les réunir en un groupe comme l'a fait jadis Schröter (**49**) quand il a créé la famille des « *Ascoideaceae* ».

Une nouvelle interprétation des *Hemiasci*. — Si l'on résume brièvement les principaux résultats que nous avons obtenus en étudiant l'évolution des noyaux chez *Ascoidea rubescens* on obtient une base solide qui nous permet de résoudre la question de la position systématique de ce Champignon. C'est pour cela que nous avons insisté sur ces quatre points dans la partie précédente. Nous avons aussi fait ressortir l'analogie qui existe entre *Ascoidea rubescens* et *Dipodascus albidus* et souligné de même que le sac sporifère chez ces Champignons est originairement polyénergide, quant aux spores, elles possèdent des noyaux qui descendent d'un noyau double. A notre avis, on n'a pas mis

assez en relief cette particularité chez *Dipodascus albidus.*

Mais une question s'impose : que représente en réalité le sac sporifère appelé jusqu'à présent tantôt asque et tantôt sporange chez des Champignons comme *Dipodascus albidus* et *Ascoidea rubescens* ?

Nous prendrons pour base de ces considérations l'opinion de P.-A. Dangeard sur le sac sporifère du *Dipodascus albidus* : « ...il n'existe aucune différence sensible entre le sporogone du *Dipodascus* et celui de l'*Albugo candida* ; les relations sont plus étroites, au point de vue de la formation de l'œuf entre ces deux genres, qu'entre les diverses espèces d'*Albugo* ; dans ces conditions, le passage de Phycomycètes au *Dipodascus* se fait presque insensiblement et se trouve caractérisé par la germination immédiate de l'œuf en sporogone. D'un autre côté, il est bien difficile de ne pas reconnaître dans le sac sporifère du *Dipodascus* le prototype de l'asque des Ascomycètes, surtout lorsque nous aurons essayé de suivre pas à pas la marche même de l'évolution. » (**34**, page 42).

Cette idée très suggestive sur la dérivation de l'asque est non seulement probable, mais doit correspondre à la réalité. Elle apparaîtra comme telle, si l'on donne une interprétation plus conforme à des données positives.

L'hypothèse que l'asque est un œuf qui germe immédiatement en sporogone, envisagée au point de vue phylogénétique, va nous donner des résultats inattendus.

Supposons que *Dipodascus* soit un type intermédiaire entre les Phycomycètes et les Ascomycètes, ou que le *Dipodascus* soit le dernier Phycomycète et le premier Ascomycète comme le dit M. P.-A. Dangeard ; le sac sporifère de *Dipodascus* doit être un organe reproducteur qui représente une transition entre l'œuf des Phycomycètes (comme il est réalisé à peu près chez certains Pérosnoporées) et l'asque des Ascomycètes. Car il serait assez étonnant qu'un œuf pareil qui germe immédiatement en sporogone réalise aussitôt un asque typique.

En effet l'œuf chez les Phycomycètes les plus évolués est ordinairement un œuf composé qui se forme par fusion des gamétanges possèdant de nombreux gamètes réduits à l'état d'énergides sexuelles. Aussi, on remarque chez ces Champignons une tendance à donner des gamètes privilégiés. Quand un œuf ainsi formé germe immédiatement en sporogone au lieu d'entrer en repos, on tombe dans le cas du *Dipodascus*. Dans ce cas là les gamètes inutilisés seront mêlés au noyau double ou aux descendants de ce noyau. Voilà un phénomène qu'on ne trouve jamais dans les asques typiques.

Nous pouvons dire maintenant qu'à notre avis le sac sporifère de *Dipodascus albidus* est un œuf qui germe immédiatement en sporogone, mais qui n'est pas devenu asque, parce qu'il possède encore les noyaux végétatifs(c'est-à-dire les gamètes inutilisés) ce qui atteste son origine primitive. D'autre part, on sait que chez ce Champignon les gamètes inutilisés déterminent la formation libre des spores dans le sac sporifère. Cette manière de délimitation des spores endogènes se retrouve dans les asques chez tous les autres Ascomycètes. Par conséquent le sac sporifère de *Dipodascus* n'est pas un vrai asque mais seulement un demi-asque (hémiasque) c'est-à-dire un asque (sporogone) qui est encore originairement polyénergide.

Ascoidea rubescens possède d'après nos propres recherches des hémiasques. C'est pour cela que nous avons proposé de réunir ces deux genres dans un même groupe.

Le groupe ainsi constitué est bien caractérisé par le fait même qu'il possède des hémiasques. Nous considérons ce groupe comme le prototype des Ascomycètes et nous le désignons par un vieux nom, dû à Brefeld : « ***Hemiasci*** ». Mais d'après nous il faut entendre sous le nom *Hemiasci* les Champignons possédant les hémiasques. Il n'est pas sans intérêt de reproduire ici ce que Guilliermond a écrit à propos des Endomycétées en 1909 (**66** pag. 388) :

« Van Tieghem réunit les genres *Eremascus* et *Endo-*

myces dans la famille des Eremascacées qui comprend les genres *Protomyces*, *Ascoidea*, *Dipodascus*, *Olinea*, *Podocapsa* et les Levûres. Cette famille est caractérisée par la présence d'asques nus, sans périthèces, naissant isolément aux dépens d'un rameau du mycélium, souvent après une conjugaison isogamique ou hétérogamique.

Les résultats que nous avons obtenus apportent une justification de ces deux dernières classifications qui réunissent aux Levûres les genres *Eremascus* et *Endomyces*. Toutefois il semble qu'on doive retrancher de la famille des Eremascacées de Van Tieghem, les genres *Dipodascus*, *Ascoidea* et *Protomyces* qui se distinguent des genres *Eremascus*, *Endomyces* et des Levûres, par leurs asques qui, dès leur naissance, offrent une structure plurinucléée et qui aboutissent à la formation d'un nombre considérable et variable d'ascospores. »

On voit combien cet auteur a été près de la vérité, seulement il n'a pas tiré de conclusions décisives.

Nous sommes arrivé par une voie oblique à réunir les deux genres *Dipodascus* et *Ascoidea* sous un nom sous lequel ils ont été déjà réunis. Mais nos conceptions sur les *Hemiasci* sont sensiblement différentes de celles de Brefeld.

De pareilles tentatives ont été déjà faites. Nous mentionnons ici celle due à Büren (**15**) à propos des *Protomyces*. Cet auteur après avoir supposé qu'une fusion de noyaux se produit dans les chlamydospores chez les Protomycetées interprète la notion de « *synascus* » et ajoute la conclusion suivante : « Am nächsten würde Protomyces der Gattung *Dipodascus* stehen; mit dieser würden die Protomycetaceen eine besondere Gruppe der Protascineen bilden. Auf diese Weise käme, freilich mit ganz anderer Begründung, wieder ein Teil der Brefeld'schen Hemiasci in eine Gruppe zusammen. »

On peut opposer à cette manière de voir les faits suivants .

1. La supposition d'une fusion à l'intérieur de la chlamydospore est restée jusqu'à présent une simple hypothèse.
2. Si l'on admet avec Büren que la fusion des noyaux s'opère dans la chlamydospore et que la réduction est retardée et que par conséquent la validité de la notion « *synascus* » existe, il est difficile de réunir ces Champignons avec *Dipodascus* étant donné que ce « *synascus* » est complétement isolé parmi les Champignons comme l'a déjà remarqué à juste titre Gäumann.
3. Nous avons montré qu'une analogie entre *Dipodascus* et *Ascoidea* est beaucoup plus évidente.

Quoi qu'il en soit, à notre avis des recherches plus complètes sur *Protomyces* s'imposent si l'on veut obtenir une solution définitive.

Comme nous l'avons déjà exposé, la dénomination d'*Hemiasci* a été employée plusieurs fois par divers auteurs pour désigner certains groupes de Champignons depuis l'époque où elle fut créée par Brefeld. Pourtant on n'a pas précisé qu'il faut comprendre sous ce nom les Champignons qui possèdent des hémiasques, de même qu'on n'a pas non plus suffisamment tiré au clair la notion d'hémiasque. Ce manque de précision on le sent instinctivement à la lecture des travaux concernant les *Hemiasci*, parce qu'on appelle le sac sporifère de ces Champignons tantôt sporange, tantôt asque. Nous croyons avoir démontré que l'hémiasque est un organe reproducteur bien défini au même titre que l'asque et la baside.

En résumé, nous pouvons dire : Comme les Basidiomycètes possèdent les basides, les Ascomycètes les asques, ainsi les *Hemiasci* ont les hémiasques comme forme principale de la reproduction.

Relations entre *Hemiasci* et Ascomycètes. — Dans cette partie, nous allons nous occuper des liens qui unissent les *Hemiasci* aux Ascomycètes.

Les relations qui existent entre *Dipodascus* et les *Ascomycètes* inférieurs sont notoirement admises, surtout entre *Dipodascus* d'un côté et *Eremascus* et les *Endomycetaceae* d'autre part. Aussi on n'a pas omis de remarquer que les spores d'*Ascoidea rubescens* ressemblent à celles de certains *Endomycetaceae* et *Saccharomycetaceae.* Ces relations ont paru si naturelles et étroites qu'on n'a pas ressenti la nécessité de délimiter *Dipodascus* par rapport aux autres Ascomycètes. On a regardé le sac sporifère de ce Champignon, comme une sorte d'asque et par conséquent il a paru tout à fait naturel de considérer *Dipodascus* comme un vrai Ascomycète.

Atkinson a bien remarqué la position spéciale de *Dipodascus* qui possède d'après lui un « *generalized ascus* ». A partir de ce Champignon, il fait dériver les autres Ascomycètes inférieurs. Voilà ce qu'il dit : « In this way by reduction in number of spores to 8 and 4, just permitting the meiotic nuclear divisions, forms like *Eremascus* and *Endomyces* have arisen. Further reduction of one of the gametes, or of the vegetative stages, would result in apogamous forms of *Endomyces*, the *Exoasceae*, the *Saccharomycetes*, or yeasts, etc. By reduction and loss of one of the gametes without reduction in size of the generalized « ascus », such forms as *Ascoidea*, *Protomyces*, *Taphridium*, etc., may have arisen (**2**, pag. 319-320) ».

P.-A. Dangeard qui voit dans *Dipodascus albus* le prototype des Ascomycètes considérait *Eremascus albus*, comme l'espèce la plus proche de ce Champignon et comme possédant déjà un asque typique. Il supposait que les articles de cet *Eremascus* sont polyénergides comme les gamétanges eux aussi et il déclarait : « Nous avons lieu de croire, d'après ce qui existe chez le *Dipodascus*, que les deux noyaux privilégiés se rencontrent et s'unissent dans le canal de communication ; si les autres restent dans les gamétanges, l'œuf acquiert une individualité qu'il ne possède pas dans le *Dipodascus* » (**34**, pag. 44).

Si les recherches ultérieures confirment cette hypothèse, en ce qui concerne *Eremascus albus* nous aurons une explication plausible de l'évolution des hémiasques en asques. En réalité pour montrer comment les *Hemiasci* sont devenus les véritables Ascomycètes il faut indiquer le mode de disparition des noyaux végétatifs des hémiasques. Autrement dit il faut montrer comment il se fait que les hémiasques ne sont plus polyénergides à l'origine.

Chez *Eremascus fertilis* et chez plusieurs espèces d'*Endomycetaceae* on trouve que les cellules végétatives dont se compose le mycélium ont tendance à devenir uninucléés. La cellule apicale est polyénergide. Elle se cloisonne progressivement et fournit finalement les articles uninucléés. Cette tendance vers une forme mononucléée est susceptible de suggérer la possibilité d'un autre mode de transformation des *Hemiasci* en Ascomycètes. Etant donné que les articles sont devenus uninucléés il doit en être de même des rameaux copulateurs. Par conséquent à l'origine, les asques ne possèdent que deux noyaux qui se fusionnent plus tard en donnant le noyau double qui fournit les noyaux des ascospores par des divisions successives.

Dernièrement A. Guilliermond (**75**, pag. 613-615) a proposé comme intermédiaire entre la reproduction sexuelle du *Dipodascus* et celle des *Endomycetaceae* la reproduction de l'*Endomyces Magnusii*. Cette suggestion nous paraît acceptable. Toutefois, nous refusons de considérer les rameaux copulateurs de ce Champignon comme des gamètes. Ce sont plutôt des gamétanges qui ont tendance à ne renfermer qu'un seul gamète comme on le trouve chez certains autres *Endomycetaceae* et comme c'est le cas pour le rameau mâle de ce Champignon. Il faut se rendre compte que les *Endomycétaceae* n'ont pas de gamètes individualisés parce qu'ils sont réduits ici à l'état d'énergides sexuelles. Le fait qu'on trouve seulement un noyau par gamétange ne peut rien

y changer, ainsi que le fait que ces gamétanges deviennent plus tard morphologiquement plus ou moins indistincts. Cette évolution régressive peut se poursuivre jusqu'à disparition complète des gamétanges. Dans ce cas là, un article quelconque du mycélium peut se transformer directement en un sac sporifère qui peut être considéré comme un asque rétrogradé. C'est ce qu'on trouve souvent chez les *Endomycetaceae*.

Le cas de l'*Endomyces Magnusii* est précisément le meilleur argument en faveur de notre interprétation parce que ce Champignon nous suggère la façon selon laquelle s'est effectué le passage des gamétanges ordinaires comme on les trouve chez les *Hemiasci*, à ceux renfermant un seul gamète.

On voit bien alors l'abîme qui sépare les *Hemiasci* des véritables Ascomycètes. Bien que franchissable, cet abîme n'en existe pas moins. On ne s'est pas douté de la distance qui sépare le *Dipodascus* de *Eremascus* et des *Endomycetaceae*. Chaque fois qu'on a voulu démontrer les liens qui unissent ces Champignons, on a été obligé de recourir à des hypothèses plus ou moins vagues, plus ou moins acceptables. Nous avons été obligé, nous aussi, de nous servir d'hypothèses. Pourtant ces relations sont si naturelles et étroites qu'on n'a jamais omis de les mentionner (Atkinson, P.-A. Dangeard, Gäumann, Gwynne-Vaughan, etc.). Mais il est juste de dire que Vuillemin ne considère pas le *Dipodascus* comme un vrai Ascomycète ; devant la structure cytologique de son sac sporifère, il se trouve dans un grand embarras. Voilà ce qu'il dit à ce propos (**135**; pag. 333) : « Juel conclut que le *Dipodascus* n'a peut-être qu'une parenté très lointaine avec les Ascomycètes comme avec les Phycomycètes. Par rapport aux premiers, il paraît occuper un rang bien inférieur dans la série phylogénétique. C'est aussi notre avis. Loin d'y voir le trait d'union entre les Péronosporées et les Ascomycètes connus, nous n'y verrons qu'un type aberrant, actuellement inclassable.

Nous nous demanderons seulement si le sporocyste n'y résulte pas d'une modification secondaire de l'asque, de même que, chez les Ustilaginées, les conidiophores se substituent à la baside ».

Conformément à ce qui précède, nous ne pensons pas être obligé de tenir compte de cette opinion.

Nous soulignons que, chez Ascomycètes, les spores se forment par délimitation libre du plasma autour des noyaux comme chez les *Hemiasci* et non par clivage du plasma ainsi que cela se passe dans les sporanges. Mais les embryons des spores chez les *Hemiasci* sont si petits qu'on ne peut pas constater avec netteté si les centrosomes jouent le même rôle que chez les Ascomycètes supérieurs. Cependant nous avons de fortes raisons de croire que le rôle des centrosomes pendant la formation des embryons des ascospores n'est ni essentiel ni caractéristique. En outre, on y trouve de l'épiplasme, c'est-à-dire du plasma inutilisé pendant la formation des spores. L'épiplasme peut être absorbé presque complètement chez certains Ascomycètes. Ce mode de formation des ascospores « *free-cell-formation* » (Harper) n'a aucune explication raisonnable si on ne la considère comme un procédé légué par les *Hemiasci* aux Ascomycètes. Ce procédé de formation des spores qui a son origine chez les *Hemiasci*, où il est déterminé par la présence de deux séries de noyaux dans les hémiasques, persiste encore quand l'hémiasque est devenu un asque vrai. Aussi nous avons montré qu'on peut appliquer à l'hémiasque ce que P.-A. Dangeard a établi pour l'asque, c'est-à-dire que c'est un sporogone. Nous pouvons le dire d'autant plus facilement que ce savant a considéré *Dipodascus albidus* comme un véritable Ascomycète. A notre avis ce sont là les meilleures preuves à l'appui d'une théorie de la filiation des Ascomycètes à partir des *Hemiasci*.

Mais ce n'est pas tout. Le rapprochement que nous avons fait entre *Dipodascus* et *Ascoidea*, est susceptible d'ouvrir des perspectives nouvelles auxquelles ne manque

pas un certain intérêt si l'on tient compte des espèces trouvées par Holtermann : *Ascoidea saprolegnioides, Oscarbrefeldia pellucida* et *Conidiascus paradoxus.* Nous regrettons vivement qu'on en connaisse si peu sur la cytologie du développement de ces Champignons. Cependant voici notre opinion.

Chez *Oscarbrefeldia pellucida* non seulement les cellules terminales, mais les cellules végétatives peuvent se transformer en sporogone. De plus, d'après Holtermann, les spores sont entourées d'épiplasme et leur nombre est variable (1-70). La présence de l'épiplasme laisse supposer une fusion nucléaire comme point de départ de la formation des noyaux des futures spores. Les cellules végétatives qui vont se transformer en sac sporifère sont-elles polyénergides ou non ? C'est là la question la plus importante. Dans le premier cas, on peut supposer une filiation directe à partir de *Dipodascus* par simple suppression des gamétanges. Il n'y a plus fusion entre cellules contiguës et chaque cellule végétative peut se transformer en un hémiasque dès qu'il y a fusion de deux noyaux.

Au contraire, si les sacs sporifères possèdent seulement deux noyaux, ce qui nous semble moins probable, *Oscarbrefeldia* ne serait qu'un type dérivé des *Hemiasci*, et assurant sans intermédiaire la liaison avec les Exoascinées. Quoi qu'il en soit, on peut se rendre compte de la grande importance qu'il y aurait à connaître l'évolution nucléaire de cette espèce.

Dans le cas où la formation des hémiasques est limitée principalement aux cellules terminales, la quantité des cellules reproductrices est réduite. On comprend alors facilement la formation successive des hémiasques. C'est ainsi que se réalise le type *Ascoidea* qui lui aussi est un type dérivé de *Dipodascus* par la suppression d'un seul gamétange. Une cellule quelconque de mycélium peut produire par croissance latérale un hémiasque de telle manière qu'il est sessile. Dans son jeune stade, il a tout à fait l'appa-

rence d'un gamétange comme on en trouve chez *Dipodascus*. Il se délimite par rapport au filament de mycélium par une cloison transversale et continue sa transformation en hémiasque. Quant à l'autre gamétange, on ne le retrouve plus, ce qui n'exclut pas la possibilité théorique d'une production par la cellule voisine d'un nouveau gamétange se transformant également en hémiasque. Ces gamétanges n'entrent jamais en communication. On trouve le même fait quand on constate dans une série d'hémiasques, se formant successivement, que l'un d'entre eux se forme latéralement au lieu de prendre la même direction que les autres (figure 1, Planche III).

A cette occasion nous voulons rectifier une erreur qui se transmet d'un ouvrage à l'autre dans la littérature récente. On y trouve indiqué que le sac sporifère de *Dipodascus albidus* peut se former aussi aux dépens d'un seul gamétange. Voici des exemples. Gäumann (**64**, pag. 136) pense que : « Ausnahmsweise kann sich diese Entwicklung auch parthenogenetisch vollziehen, indem sich die Gametangien ohne Verschmelzung zu Asci entwickeln ». On trouve la même chose dans un livre de Kniep, paru il y a trois ans (**96**, pag, 352) : « Asci können auch partheno- oder ephebogenetisch entstehen, d. h. aus ♀ oder ♂ Gametangien die nicht kopulieren (Lagerheim 1892, Juel 1902, 1921) ». Nous avons examiné avec grande attention le travail de Lagerheim comme aussi ceux de Juel, mais nous n'avons trouvé nulle part dans le texte un passage qui justifierait une pareille assertion. Lagerheim surtout est très décisif à cet égard (**97**, page 553) : « Die *Sporenschläuche entstehen ausnahmslos durch Fusion von zwei Zellen*, ähnlich den Zygosporen gewisser Mucorineen ; *von dieser Regel wurde keine einzige Ausnahme gefunden*, obgleich sehr zahlreiche Culturen sorgfältig durchmustert wurden ». — Il a constaté de même que les gamétanges dégénèrent toujours quand ils n'entrent pas en copulation pour une raison quelconque.

Pourtant il faut reconnaître que certaines figures qu'on trouve dans les travaux de Juel et que nous donnons comme la figure 7 de notre texte sont capables de suggérer une pareille interprétation, si l'on ne tient pas suffisamment compte du texte correspondant. En réalité, les asques qui sont représentés par ces figures sont formés à la suite d'une fusion entre deux gamétanges comme tous les autres chez cette espèce. Mais ici on voit seulement un rameau copulateur, l'autre est coupé par le microtome et il ne se trouve pas dans la coupe observée. C'est avec regret que nous avons dû rectifier cette erreur, car s'il en était autrement, on pourrait dire que la dérivation de l'*Ascoidea* à partir du *Dipodascus* serait un fait à peu près indiscutable.

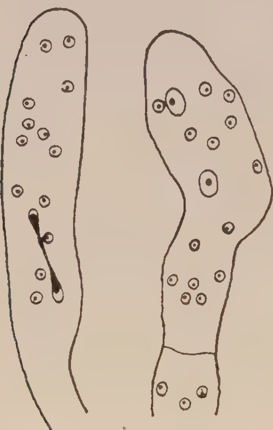


Fig. 7. — *Dipodascus albidus* (d'après Juel). Un des deux rameaux copulateurs est coupé de telle façon qu'on peut croire que le sac sporifère se forme aux dépens d'un seul gamétange comme c'est le cas chez *Ascoidea rubescens.*

Il est hors de doute que l'évolution des noyaux chez *Ascoidea saprolegnioides* est la même que chez *Ascoidea rubescens* étant donné que la seule différence entre ces deux espèces réside dans la forme des spores et que le développement morphologique de l'*Ascoidea saprolegnioides* est semblable à celui de l'*Ascoidea rubescens*. C'est pour cela que nous croyons être autorisé à supposer qu'au point de vue de l'évolution nucléaire, le premier Champignon se comporte comme le second. Par conséquent il peut trouver place dans le groupe des *Hemiasci* à côté de l'*Ascoidea rubescens.*

Quant au *Conidiascus paradoxus*, les données fournies par Holtermann à son sujet sont notoirement insuffisantes. De plus elles nous paraissent être contradictoires. Il mentionne que les spores sont entourées par l'épiplasme.

C'est douteux d'après les figures 11 et 12, planche III, de son œuvre intitulée : « *Mykologische Untersuchungen aus den Tropen* » (**89**).

D'autre part, si le nombre de noyaux est réduit dans les articles ou au moins dans les articles qui vont fournir les ascospores, et devient plus ou moins constant chez les espèces hypothétiques semblables à *Oscarbrefeldia*, on obtient des formes qui peuvent être saprophytes comme *Ascocortitium* ou parasites comme les Exoascinées. Si l'on envisage sous cet angle la filiation de ces deux derniers groupes, on comprend pourquoi on ne trouve chez eux aucun vestige d'organes sexuels et pourquoi les asques se forment immédiatement aux dépens des cellules végétatives. La cellule de base, qui existe chez certains Exoascinées nous apparaît comme une acquisition secondaire.

D'après les travaux de Mlle P. Eftimiu (**47**) la formation des embryons des ascospores chez Exoascinées ressemble plutôt à celle des *Hemiasci* qu'à celle des Ascomycètes supérieurs. Cela semble indiquer que nous étions en bonne voie quand nous avons essayé de faire dériver les Exoascinées à partir des *Hemiasci*. Finalement nous pouvons conclure que la signification du sac sporifère et le mode de la formation des spores endogènes chez les *Hemiasci* et les Ascomycètes sont des faits de la plus haute importance indiquant qu'il faut faire dériver les Ascomycètes des Hemiasci.

Relations entre *Hemiasci* et Phycomycètes. — Nous avons donné une définition précise des *Hemiasci* et indiqué que nous considérons ce groupe comme le prototype des Ascomycètes. Ce qui nous intéresse ici c'est de trouver leur origine. Nous n'avons pas la prétention de résoudre cette question d'une manière définitive parce que nous ne connaissons pas ce que nous réserve l'avenir. Une découverte heureuse peut changer encore nos opinions. Mais nous allons montrer les perspectives qui apparaissent

si l'on se place à notre point de vue tel que nous l'avons développé jusqu'à présent. Nous tâcherons une fois de plus de définir cette question. C'est tout ce qu'on peut faire pour le moment. On verra dans la suite que chaque fois qu'on serre de plus près la question de la dérivation des *Hemiasci* on en est réduit aux hypothèses et que la solution échappe.

Cependant il y a de fortes raisons pour que les *Hemiasci* aient leur origine parmi les Phycomycètes ; nous les avons déjà données. Reste à savoir s'il faut chercher cette origine parmi les Zygomycètes ou parmi les Oomycètes.

Gäumann a récemment soutenu avec beaucoup de talent, l'idée qu'il faut chercher l'origine des Ascomycètes parmi les Zygomycètes du type *Endogone*. Il n'oublie pas de citer un travail de F. Wettstein (**141**) qui insiste sur le faite que les Oomycètes possèdent des membranes cellulosiques tandis que les membranes chez les Zygomycètes sont en chitine identique à celle des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Remarquons encore qu'on a considéré les espèces *Endogone* comme appartenant aux Ascomycètes. Guilliermond a écrit à propos de ces Champignons (**68**, pag. 461) : « Récemment, Bucholtz (1) a observé dans une autre Hémiascée, l'*Endogone lactiflua*, une reproduction sexuelle assez analogue. Les deux gamétanges sont des renflements formés à l'extrémité de certains hyphes. L'un , un peu plus gros, représente le gamétange mâle. Les deux gamétanges renferment de nombreux noyaux situés dans leur région périphérique. L'un de ces noyaux augmente de volume et devient le noyau reproducteur. Les noyaux émigrent tous à la base de chaque gamétange à l'exception du noyaux reproducteur. Une cloison transversale sépare à l'extrémité du gamétange mâle, une anthériedie, et à l'extrémité du gamétange femelle, une oosphère. Les deux gamètes ainsi délimités s'anastomosent par un canal de copulation,

1. L'auteur considère cette espèce comme appartenant aux Phycomycètes.

puis tout le contenu du gamète mâle passe dans l'oosphère. Les deux noyaux sexuels émigrent alors dans une évagination de l'oosphère dans laquelle ils se fusionnent. C'est aux dépens de cette évagination que se développe l'asque. L'*Endogone Ludwigii* présenterait, d'après Bucholtz, les mêmes phénomènes. »

Dangeard de son côté en est venu à considérer les Oomycètes comme les ancêtres des Ascomycètes. Il les fait dériver d'un groupe hypothétique voisin du *Myzocytium vermicolum* qui possède en même temps gamétanges et sporanges. Cela doit expliquer les analogies qui existent entre le *Dipodascus albidus* et les Péronosporées. Nous sommes d'accord avec lui pour penser qu'il faut chercher l'origine de *Dipodascus* parmi les Champignons voisins du *Myzocytium*, à la condition qu'on suppose que ces Champignons ont subi une évolution analogue à celle des Péronosporées.

Chez les Péronosporées on remarque nettement une tendance à donner des gamètes privilégiés comme on en trouve chez les *Hemiasci*. Par contre, chez *Endogone*, on trouve une tendance vers les gamétanges à un noyau. D'après Atkinson chez *Endogona pisiformis* Lk. (E. *sphagnophila* Atk.) tous les noyaux après la fusion des gamétanges entrent en copulation, tandis que l'*Endogone lactiflua* Berk possède seulement un noyau par gamétange. Les autres noyaux reculent avant la formation de la cloison de base, ou dégénèrent sur place. Par conséquent, si l'on considère avec Gäumann les *Endogone* comme étant la souche des Ascomycètes on ne peut pas expliquer la présence chez les *Hemiasci* des deux séries de noyaux qui entraînent la formation libre des spores. Pour cela il faut supposer que :

1. Les gamétanges sont polyénergides.
2. La tendance vers les gamètes privilégiés existe.
3. Dans l'œuf qui germe immédiatement en sporogone les gamètes inutilisés ne disparaissent pas de bonne heure.

Si les gamétanges polyénergides chez un type comme *Peronospora parasitica* se fusionnent avant la différenciation complète de l'oosphère et forment un œuf qui germe immédiatement en un sporange, les trois conditions nécessaires pour la réalisation du type *Dipodascus* sont remplies. Mais ce n'est pas le cas pour l'espèce mentionnée parce que la structure de l'oosphère est déjà trop évoluée. C'est pour cela qu'il n'est point nécessaire de faire dériver les *Hemiasci* à partir des Péronosporées, mais il faut chercher leur origine à un niveau plus primitif. Pourtant les travaux sur l'évolution nucléaire chez les Péronosporées ont le grand mérite de nous montrer la marche d'une évolution très intéressante qui est en mesure d'expliquer la structure de l'hémiasque.

On a voulu dernièrement voir dans *Sphermophthora gossypii* un Champignon qui représente une sorte de transition entre les Siphomycètes et les Ascomycètes. Ce Champignon a été décrit par Ashby et Nowell (**1**) et étudié ensuite au point de vue cytologique par Guilliermond. Les résultats obtenus par cet auteur nous paraissent extrêmement curieux et intéressants.

D'après lui : « ... ce Champignon doit être incontestablement placé parmi les Ascomycètes. On peut donc le considérer comme une forme archaïque intermédiaire entre les Siphomycètes et les Ascomycètes » (**75**, page. 414). Mais d'après les faits fournis par cet excellent cytologiste et concernant le développement de *Spermophthora gossypii* nous ne voyons pas la possibilité d'assimiler pour le moment ce Champignon aux Ascomycètes (1).

1. *A priori* il n'existe pas de difficultés théoriques insurmontables pour faire dériver les *Hemiasci* (dans le sens où nous les prenons) à partir d'un groupe hypothétique de Champignons voisins de *Spermophthora gossypii*. Mais pour préciser les choses il nous faudrait résoudre par une étude nouvelle certains points du développement de ce Champignon que nous trouvons obscurs. En effet, nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier nous même *Spermophthora gossypii*. Toutefois, il faut reconnaître le grand mérite de

Enfin nous pouvons dire qu'il existe beaucoup d'indications invitant à chercher l'origine d'*Hemiasci* parmi les Phycomycètes mais dans l'état actuel des choses il nous semble difficile de donner la préférence à l'un des groupes de Phycomycètes.

La filiation des Ascomycètes. — Nous avons montré les difficultés qu'on rencontre, quand on essaye de rattacher l'*Hemiasci* aux Phycomycètes d'une part et d'autre part aux Ascomycètes. Mais on a pu s'apercevoir que ces difficultés consistent principalement dans le fait que pour le moment nous ne connaissons pas assez de formes intermédiaires. Pourtant ces difficultés ne sont pas insurmontables. L'idée qu'il faut faire dériver les Ascomycètes à partir des *Hemiasci*, dont on doit chercher l'origine parmi les Phycomycètes, est la conséquence logique de tout ce que nous savons aujourd'hui sur les Champignons. Nous croyons avoir assez insisté sur ce point là dans les pages précédentes. Mais on peut se demander s'il faut faire dériver tous les Ascomycètes à partir des *Hemiasci* et s'il n'y a pas lieu d'admettre une autre origine au moins pour une partie de ces Champignons. Autrement dit, on peut se demander si les Ascomycètes sont monophylétiques ou polyphylétiques ? C'est pour cela que nous ne pouvons pas terminer ces considérations théoriques sans dire quelques mots sur la filiation des Ascomycètes en général, quoique nous n'ayons rien de nouveau à ajouter aux faits qui sont déjà connus. Il nous suffit de les récapituler brièvement pour prendre ensuite position.

On a cherché l'origine des Ascomycètes un peu partout. Nous pourrions énumérer un grand nombre d'hypothèses différentes qui, à notre avis, ont seulement un intérêt historique. Pour être bref, nous indiquerons avec Gäu-

M. A. Guilliermond, qui a attiré l'attention par ses travaux sur cet intéressant Champignon, bien que nous ne puissions pas accepter toutes les interprétations que cet auteur a formulées à propos de ce Champignon.

mann trois hypothèses principales. Voilà ce qu'il dit à ce propos (**64**, pag. 370) : « Lehnt man aber, wie es hier geschah, die Ableitung der Laboulbeniales und der Pezizales von den Florideen, wie sie ursprünglich in den 70-er Jahren von Sachs vorgeschlagen und in neuerer Zeit von Vuillemin (1912), Dodge (1914) und Fink (1915) ausgebaut worden ist, ab, so bleiben als Wurzeln der Ascomyceten nur noch zwei Ordnungen übrig, die Oomyceten (de Barysche Schule) und Zygomyceten (Brefeldsche Schule) ». Nous sommes d'accord avec lui pour écarter la prétendue filiation à partir des Floridées. Dans la suite on en verra les raisons.

On a longtemps invoqué comme preuve de l'origine floridéenne des Ascomycètes, le mode de reproduction de certaines espèces qui vivent en symbiose avec les algues et forment les lichens. Dans un récent mémoire M. et Mme F. Moreau se sont occupés à fond de cette question et sont arrivés à cette conclusion (**110**, pag. 64) : « Ni les termes de cette histoire, communs à tous les Champignons supérieurs, ni aucune des structures rencontrées au cours de cette étude des Champignons des Lichens, n'indiquent des affinités floridéennes. Les Floridées cessent d'être une souche possible pour les Champignons qu'on avait cru pouvoir en rapprocher et nous sommes conduits à conclure en faveur du Monophylétisme des Champignons supérieurs ».

De son côté F. G. Atkinson a réfuté la possibilité d'une origine floridéenne pour les Ascomycètes, idée qui a connu depuis Sachs une fortune étonnante. Cela nous dispense ici de passer en revue toutes les opinions formulées par les différents partisans de Sachs, et si nous attachons une importance aux travaux d'Harper ce sera simplement pour montrer que les données fournies par cet excellent histologiste, envisagées sous un autre angle, sont capables dans une certaine mesure de fournir la preuve de l'homogénéité de la classe de Ascomycètes. Harper dans une série de travaux a montré qu'il existe une profonde diffé-

rence entre les modes de formation des spores dans les sporanges et des ascospores dans les asques.

Le processus qui préside à la formation des premières est caractérisé par le « *cleveage* » du plasma, tandis que les ascospores se forment par « *free-cell-formation* ». On se contente de ces constatations, qui, d'ailleurs sont aujourd'hui généralement admises. Pourtant nous ne voyons aucune raison *a priori* pour que les ascospores ne se forment pas dans les asques de la même façon que les spores dans les sporanges.

Il est vrai qu'on a tenté d'opposer dans les asques deux espèces de protoplasma l'une à l'autre. Ce sont :

1. Le plasma sporogène.
2. L'épiplasme ou plasma nourricier.

S'il en était ainsi, on comprendrait peut-être la raison de la délimitation des ascospores à la manière de Harper. Reste à savoir si on peut vraiment admettre la coexistence de deux plasmas différents dans les asques. Il y a déjà plus d'un quart de siècle que Guilliermond a écrit à propos de *Aleuria cerea* (**65**, pag. 58-59) : « L'épiplasme provient donc non seulement du cytoplasme alvéolaire des deux pôles des cellules mères des asques, mais aussi d'une partie du plasma sporogène, et, comme nous l'avons constaté déjà dans l'*A. marginatus*, il n'y a pas de distinction très tranchée entre le plasma sporogène et l'épiplasme ou plasma nourricier ». Sur ce point nous sommes d'accord avec cet auteur. On peut d'ailleurs facilement vérifier ce fait, et nous avons eu l'occasion de le faire à maintes reprises pendant nos recherches sur les Ascomycètes. L'épiplasme n'est pas un plasma spécial, mais simplement la cytoplasma de l'asque, qui est resté en dehors des ascospores et qui peut être plus ou moins absorbé par eux pendant leur développement définitif.

On peut alors conclure que les recherches effectuées sur les Ascomycètes supérieurs ne projettent aucune lumière sur cette question. Le cas exceptionnel de certains Asco-

mycètes dont tous les noyaux dans l'asque (*Erysiphaceae*) ne donnent pas naissance à des ascospores ne peuvent rien y changer. Autrement dit, le problème envisagé au point de vue ontogénétique reste inexplicable, par contre envisagé au point de vue phylogénétique il nous paraît tout à fait naturel, comme nous l'avons déjà vu, et prend une grande importance comme l'a déjà montré Gäumann.

En effet, peu importe si les centrosomes jouent un rôle (formation des radiations astériennes chez les Ascomycètes supérieurs) pendant la délimitation des spores ou non (*Hemiasci*, *Exoasci*) ; ce procédé est, dans son essence, toujours le même. Il se forme d'abord un embryon de spore autour de chaque noyau au milieu du cytoplasme. Ces spores embryonnaires augmentent progressivement de volume et finalement sont recouvertes par une membrane. Pour les *Hemiasci* il est clair que la présence de deux séries de noyaux dans les hémiasques détermine ce phénomène, tandis que chez les Ascomycètes ce n'est plus la même chose. On peut bien concevoir que les ascospores se forment par le clivage du plasma comme les spores dans les sporanges. Pourtant ce n'est pas le cas. Il est évident que les *Hemiasci* évoluant en Ascomycètes ont légué à ces derniers ce procédé de formation des spores. Il persiste encore quand les conditions sont changées et on le trouve chez tous les Ascomycètes. Nous voyons dans la formation libre des ascospores le cachet de parenté qui nous atteste l'homogénéité de la classe des Ascomycètes qui a son origine parmi les *Hemiasci*.

Voilà pourquoi nous avons été si bref quand nous avons réfuté l'idée émise pour la première fois par Sachs, que les Floridées sont les ancêtres des Ascomycètes.

Un exemple classique qui devait soutenir l'idée de Sachs est celui des Laboubéniacées. Or Faull a trouvé chez *Laboulbenia gyrinidarum* Thaxt. et *Laboulbenia chaetophora* Thaxt. que les ascospores se forment comme chez tous les autres Ascomycètes. Cela suffit pour réfuter cette opinion courante.

Gäumann a exprimé cette même idée en ces termes (**64**, pag. 368) : « Es scheint undenkbar zu sein, dass so hoch spezialisierte Organe, die bezüglich der freien Zellbildung ihrer Tochterzellen (Ascosporen) auf so besonderen stammesgeschichtlichen Bedingungen beruhen (coenocytische Gametangien, Privilegierung von Sexualkernen) nun plötzlich in genau gleicher Weise auf dem kurzen Wege von den Florideen zu den Laboulbeniales entstanden sein könnten ». Nous considérons comme notre devoir d'indiquer que tout ce que nous avons dit sur la signification de la formation libre des ascospores se trouve implicitement dit dans le passage cité. Pourtant cette récapitulation a été nécessaire étant donné que nous avons remis en honneur les *Hemiasci*, et que d'autre part nos idées sur la filiation des Ascomycètes différent dans certains points de celle de Gäumann. P.-A. Dangeard a remarqué déjà en 1903 à propos de *Dipodascus albidus* que (**32**, pag. 151) : « *...l'épiplasme lui-même n'est peut-être ici que le reste des gamètes sacrifiés* ». Voilà précisément le fait que nous avons trouvé, nous aussi, chez *Ascoidea rubescens*. Après notre interprétation des *Hemiasci*, il est devenu clair qu'il existe un groupe entier où l'on voit à quel endroit on doit chercher l'origine et la cause de la formation libre des ascospores. Evidemment Harper n'a pu connaître ces faits. Pourtant nous sommes d'accord avec lui pour dire que (**82**, pag. 519) : « ...the free cell-formation in the ascus seems as yet entirely unique, and its occurrence in widely separated forms of the Ascomycetes is justification for considering it as perhaps the most important and specific feature by which to distinguish the ascus from other spore-producing cells ». C'est pour cela que nous avons pu tourner à notre profit son opinion sur la signification de : « *free cell-formation* » et sur la phylogénie des Ascomycètes. C'est ainsi que nous sommes tombé d'accord avec Gäumann sur la signification de « *free cell-formation* ».

Nous croyons avoir réussi à montrer que tous les Asco-

mycètes sont des formes qui en dernier lieu descendent des *Hemiasci* quoiqu'on ne trouve pas toujours toutes les transitions voulues. Qu'on nous permette la constatation suivante : Après nos recherches sur *Ascoidea rubescens* et après notre interprétation des *Hemiasci* il serait difficile de considérer *Dipodascus albidus* comme : « *un type aberrant actuellement inclassable* ». Il n'y a pas lieu non plus de se demander : « *si le sporocyste n'y résulte pas d'une modification secondaire de l'asque* » comme l'a fait Vuillemin. Killian semble être aussi du même avis quand il dit (**94**, pag. 190) : « La distance séparant ainsi les *Ascomycètes* inférieurs des *Ascomycètes* supérieurs serait considérable, s'il n'y avait pas lieu d'admettre qu'il s'agit chez le *Dipodascus* d'une modification secondaire ». Nous avons déjà montré dans ces considérations théoriques qu'on peut faire dériver les asques des hémiasques. Une explication rationnelle de ce dernier organe reproducteur ne peut nous être fournie que par les Phycomycètes. Nous soulignons que personne à notre connaissance n'a réclamé jusqu'à présent une origine floridéenne pour *Dipodascus albidus* ou *Ascoidea rubescens* ce qui serait naturel si l'on veut faire descendre à tout prix les Ascomycètes des Floridées.

*
* *

Nous sommes arrivé au terme de nos considérations théoriques. On peut dégager maintenant la conclusion suivante. Tous les Ascomycètes dérivent des *Hemiasci* ; il faut chercher l'origine de ce groupe parmi les Phycomycètes. Telles sont les idées phylogénétiques qui se dégagent du rapprochement que nous avons fait entre *Dipodascus albidus* et *Ascoidea rubescens*. Nous espérons que des recherches ultérieures confirmeront ces idées.

*
* *

Si les résultats formulés dans notre conclusion ne sont pas entièrement nouveaux à première vue, nous croyons cependant avoir apporté par nos recherches et en particulier par notre interprétation des *Hemiasci* un peu plus de clarté et de précision dans les problèmes qui ont été traités ici.

DEUXIÈME PARTIE

ASCOMYCÈTES

(ÉTUDE DES ESPÈCES)

I. Ceratostomella piceae Münch
(= *C. pilifera* (Fr.) Wint. *pro parte.*)

Considérations historiques. — *Ceratostomella piceae* Münch intéresse aussi bien la mycologie pure que la pathologie végétale parce que c'est un de ces Champignons qui provoquent le phénomène connu sous le nom de pourriture bleue.

On a longtemps considéré *Ceratostomella pilifera* comme le seul Champignon déterminant ce phénomène. Mais Winter attribuait quatre formes différentes à ce Champignon (*Pinastri* Nees, *dryna* Pers., *capillata* Fuckel, *tenuissima* Fuckel). On peut trouver des indications intéressantes sur cette espèce dans n'importe quel manuel de pathologie végétale. Mais nous nous bornerons à citer ici à ce propos E. Marchal (**105**, page 127). D'après lui : « Ce champignon n'est pas un ennemi des arbres sur pied, mais il occasionne une maladie très particulière des bois résineux abattus : la *pourriture bleue.* Cet accident atteint l'aubier qui se colore en bleu sans subir d'altération manifeste. Les larves de certains insectes et notamment celles du *Xyloterus lineatus* sont les propagateurs ordinaires des germes du *Ceratostomella* ». La pourriture bleue est un phénomène assez fréquent ; malgré cela la structure de *Ceratostomella pilifera* a été peu connue. Lotsy indique

en 1907, que (**103**, pages 522-523) : « Trotzdem der Pilz recht häufig ist, hat doch erst Winter die Asci und Ascosporen gesehen und auch dieser nur ein einziges Mal. Die Asci verschleimen sehr bald. Die Keimung der Sporen ist noch unbekannt ».

A peu près en même temps on s'est aperçu de l'existence de plusieurs espèces de Champignons déterminant la pourriture bleue. Hedgcock en Amérique examina ces Champignons. En Europe en 1907 il parut un travail dû à E. Münch sur les Champignons qui provoquent la pourriture bleue chez les conifères. Nous pouvons résumer ainsi les résultats de ce travail.

Il existe plusieurs espèces de *Ceratostomella* très voisines entre elles qui peuvent déterminer ce phénomène. Les observations dans la nature comme dans les cultures pures ont permis de distinguer ces espèces entre elles.

Ce sont :

A. *Ceratostomella pini* n. sp. qui possède des périthèces de forme bien caractéristique.

B. Le groupe *Pilifera*, composé de trois Champignons possédant des périthèces à peu près identiques à ceux de l'ancienne espèce connue sous le nom de *Ceratostomella pilifera* (Fries) Winter, mais se distinguant entre eux par des formes conidiennes spécifiques pour chacune de ces espèces. Ce groupe est composé des espèces suivantes :

1. *Ceratostomella picea* n. sp. avec un *Graphium*, probablement identique à celui du *Graphium penicillioides* Corda.
2. *Ceratostomella cana* n. sp. avec un autre *Graphium* différent de celui qui appartient à *C. piceae*.
3. *Ceratostomella coerulea* n. sp. qui ne possède pas la forme conidienne connue sous le nom de *Graphium*.

C. Endoconidiophora coerulescens n. sp. appartient par la forme de ses périthèces au groupe *Pilifera* mais possède une forme conidienne *Chalara Ungeri* Sacc. qui est telle-

ment caractéristique que l'auteur s'est cru obligé de créer un genre nouveau.

Les Champignons mentionnés sous le n° 1-4 possèdent, en dehors des formes conidiennes, des conidies qui se forment immédiatement sur le mycélium ou sur les conidiophores isolés. Elles sont caractéristiques pour chaque espèce et peuvent être utilisées pour identifier le Champignon. Nous reviendrons encore sur ces différents conidiophores un peu plus tard à propos de leur formation pour justifier notre détermination de *Ceratostomella piceae* Münch chez qui nous avons étudié le développement des périthèces.

Au point de vue du développement, ces Champignons ne sont pas bien connus, bien qu'il ait été entrepris des travaux très intéressants a cet égard. Gäumann en parlant de ce groupe d'Ascomycètes s'exprime ainsi (**64**, pages 258-259) : « Leider ist weder von den Sphaeriaceen noch von den Ceratostomataceen ein Vertreter zytologisch eingehend untersucht worden. Einzig für *Ceratostoma brevirostre* Fckl. (*Ceratostoma* unterscheidet sich von *Ceratostomella* dadurch, dass bei ihr die Ascosporen braun sind, bei *Ceratostomella hyalin*) gibt Nichols (1896) an, dass sie ein einzelliges, gewundenes Ascogon ausbildet, an dessen Spitze sich das Antheridium unmittelbar anlegt. Die weiteren Vorgänge sind unbekannt. Jedenfalls septiert sich das Ascogon später und wächst zu ascogonen Hyphen aus ».

En 1925 parut un travail intitulé « *A cytological study of Ceratostomella fimbriata* (E. and H.) Elliot ». John A. Elliott en serait l'auteur. Mais on trouve la remarque suivante (**48**, page 417) : « This manuscript was prepared by the late Doctor Elliott. After his death it was sent by Dr. Bradford Knapp, of Arkansas, to Dr. Thomas F. Manns, who, with Dr. W. J. Baerg, of Arkansas, finished certain details and submitted the paper for publication. While it is not as complete and conclusive as it

probably would have been had Dr. Elliott lived, it is published with the idea that it may stimulate further work on the problem.-Ed ». Cette mention n'était pas vaine surtout la remarque finale, car en réalité ce travail a beaucoup stimulé notre zèle investigateur.

Nous pouvons concevoir qu'il n'est pas nécessaire que le développement de deux espèces du même genre soit toujours le même. Mais nous sommes étonné qu'il existe une différence si profonde entre le développement de *Ceratostomella fimbriata* et celui de *C. piceae.* Pourtant le travail d'Elliott n'est pas aussi complet qu'on pourrait le souhaiter. On ne peut que déplorer une mort prématurée qui n'a pas permis à cet excellent auteur d'achever lui-même son manuscrit.

Deux années plus tard Sartoris a étudié la cytologie du *Ceratostomella adiposum* (Bult.) Sartoris. Il a cherché à démontrer que ce Champignon qui provoque le *black-rot* sur la canne à sucre est un véritable Ascomycète appartenant au genre *Ceratostomella.* Par conséquent, il n'a pas attaché une grande importance au tableau du développement complet des périthèces dans cette espèce.

On peut dire qu'à l'heure actuelle, on ne possède de travail complet sur le développement d'aucune espèce du genre *Ceratostomella.* L'intérêt que peut avoir un travail complet de ce genre est évident.

Matériel et technique. — *Ceratostomella picea* a été isolé du bois de Pin maritime *(Pinus martima)* et ensuite cultivé sur gélose en boîtes de Petri. Nous avons ainsi obtenu tous les stades nécessaires à nos recherches :

Comme milieu nutritif nous avons employé celui de Lutz (**104**, page 311) pour Hyménomycètes :

Xylose	2 gr. 50
Maltose	2 gr. 50
Phosphate d'ammoniaque	0 gr. 50
Azotate d'ammoniaque	0 gr. 50
Sulfate de magnésie	0 gr. 05

Sulfate de fer	0 gr. 025
Sulfate de manganèse	0 gr. 025
Gélose	10 gr.
Eau	500 gr.

Nous avons remplacé l'eau par un liquide obtenu par la macération à haute température de sciure de bois de Hêtre blanc comme il indique dans la recette pour son second milieu. En dehors de cela nous n'avons rien changé.

Nous croyons avoir obtenu un certain avantage par cette légère modification parce que le développement des périthèces a été plus abondant.

Le matériel ainsi obtenu a été traité par les méthodes courantes. Le Flemming faible s'est montré cette fois aussi comme un excellent fixateur. La triple coloration de Flemming et l'Hématoxyline ferrique nous ont donné toute satisfaction.

Le développement du mycélium et des conidies. — Comme point de départ de nos cultures nous avons pris les ascospores. Il n'est pas difficile de s'en procurer étant donné que les ascospores une fois formées sont expulsées du périthèce et forment au sommet du col une gouttelette blanchâtre. Les ascospores ensemencées sur le milieu nutritif, et les cultures mises dans le thermostat à la température de 28 degrés, la germination se produit au bout d'une journée.

Dès que le tube germinatif a atteint une certaine longueur, il commence à se cloisonner. C'est ainsi que se forme un mycélium d'abord hyalin. La germination des conidies se produit sous les mêmes conditions au bout de quelques heures. Après quelques jours, la colonie qui est déjà assez grande, présente un aspect floconneux et blanchâtre. A ce moment, le Champignon produit une grande quantité de conidies, par ses conidiophores. La formation des conidies est particulièrement abondante sur les parties aériennes du mycélium, qui peut se présenter aussi sous

l'aspect de cordons. Dans nos cultures nous n'avons jamais trouvé de fruits conidiens connus sous le nom de *Graphium*.

Quant au conidiophore, c'est un rameau mycélien dressé, formant au sommet une cellule qui s'allonge et donne à son tour une autre cellule et ainsi de suite (fig. 8,



Fig. 8. — *Cerastotomella piceae.* Formation des conidiophores.

page 76). Autour de ces cellules se forment les autres cellules, qui sont les conidies. D'après son aspect morphologique, le conidiophore dans sa jeunesse rappelle vaguement les jeunes conidiophores des *Hormodendron* ou ceux des *Cladosporium.* Mais chez *Ceratostomella* ils sont tout à fait hyalins. La cohésion entre les éléments du conidio-

phore n'est pas grande et il arrive souvent qu'au fur et à mesure de la formation des conidies celles-ci se détachent de leur support et forment une agglomération au sommet du conidiophore (fig. 9, page 77).

Les figures qui représentent la formation des conidiophores et des conidies sont faites à la chambre claire d'après les cultures observées directement sous le microscope. C'est le seul moyen de les observer. Tous les procédés utilisés pour en faire une préparation se sont révélés insuffisants,



.Fig. 9. — *Ceratostomella piceae.* Mycélium avec conidiophores et conidies

étant donné, que les éléments d'un conidiophore se détachent facilement l'un de l'autre, ce qui fait perdre les relations naturelles de ces éléments. Pourtant dans certaines préparations fixées et colorées nous avons trouvé que chaque conidie possède un noyau. C'est pour cela que nous avons ajouté dans nos figures des conidies un point noir qui représente les noyaux comme on les voit dans ces préparations.

Quelques jours après l'ensemencement des ascospores, on constate dans les cultures un commencement de formation des périthèces et au bout d'une semaine (10 jours au plus) on voit déjà à l'œil nu les jeunes périthèces, qui ne tardent pas à mûrir.

Nous avons insisté longtemps sur la formation des conidies parce qu'elles sont très importantes d'après Münch pour la détermination des espèces du groupe *Pilifera*. Quand on compare nos dessins avec ceux de Münch, on peut constater que les conidiophores de l'espèce que nous avons examinée correspondent exactement à ceux observés par lui chez *Ceratostomella piceae* et représentés dans la figure 12 de son travail (**113**).

D'après nos cultures, nous pouvons confirmer le fait suivant mentionné par Münch. Quand le mycélium se trouve dans des conditions peu favorables au point de vue nutritif les conidiophores prennent un aspect particulier représenté par la figure 11 de Münch. La germination des conidies et des ascospores se produit de la manière que nous trouvons représentée sur la figure 9 du même travail.

Pourtant il faut bien signaler une différence entre ces deux Champignons. D'après Münch, *Ceratostomella piceae* possède dans son cycle ontogénétique un *Graphium*. Dans nos cultures nous n'avons jamais rencontré cette forme conidienne. Il est difficile de dire si cela résulte de l'influence du milieu nutritif que nous avons employé ou non. Quoi qu'il en soit, d'après la forme des conidiophores et des conidies, comme aussi d'après les périthèces, ce Champignon correspond à celui de Münch désigné sous le nom de *Ceratostomella piceae*. C'est la raison de notre identification du Champignon dont nous avons étudié le développement des périthèces.

La formation de l'ascogone. — Chez cette espèce les organes initiaux du périthèce prennent naissance à partir de deux filaments mycéliens voisins. Mais il est assez difficile de les observer à cause de leurs faibles dimensions. La figure 1, planche VIII, représentent le plus jeune stade que nous avons pu trouver, dans lequel on voit à côté de l'ascogone le trophogone sous forme d'une cellule plus petite et uninucléée. L'ascogone est plus grand et

possède déjà deux noyaux. C'est pour cela que nous supposons que c'est l'ascogone qui se forme le premier. Dans le stade suivant, il entoure le trophogone qui pendant ce temps a très peu grossi et possède toujours un seul noyau tandis que l'ascogone en contient un nombre déjà assez élevé provenant de nombreuses mitoses (Pl. VIII, 2). Ce stade correspond tout à fait au stade le plus jeune dessiné dans le travail d'Elliott sur le *Ceratostomella fimbriata.*

Les figures 8-10 de la planche VIII nous montrent les différents stades successifs du développement de *Ceratostomella piceae.* On peut constater que l'ascogone qui possède une tendance à l'enroulement ne tarde pas à être entouré par les hyphes végétatives qui sont d'abord très fines (fig. 3 et 4, Planche VIII). A ces stades on ne voit plus le trophogone qui a déjà disparu sans laisser aucune trace. Pendant ce temps l'ascogone reste toujours bien visible et peut être facilement identifié comme tel. C'est une hyphe enroulée, très grosse et avec des noyaux relativement grands.

Comme on le voit, les débuts de la formation des périthèces malgré une frappante ressemblance à leur origine, sont en réalité très différents dans ces deux espèces du genre *Ceratostomella.* Cette différence s'accentue encore pendant le développement ultérieur.

Les hyphes ascogènes. — Dans le travail d'Elliott nous admirons les beaux dessins qui représentent l'origine des hyphes ascogènes chez *C. fimbriata.* On voit nettement dans ces hyphes les synkaryons et les mitoses conjuguées, mais les dessins sont plus ou moins schématiques. A l'extrémité de ces hyphes qui sont abondamment ramifiées se forment les asques. « Nothing in the nature of an ascus hook is produced : the mother ascus-cell first appears as a terminal swelling of a branch of the ascogenous hyphae ». (**48**, page 420). Il nous semble que cette assertion est en contradiction avec la figure 19,

planche XVI, de son travail. De plus les hyphes ascogènes peuvent se fusionner d'après lui de temps en temps avec les cellules internes des parois. Nous n'avons trouvé rien de pareil chez *Ceratostomella piceae*, où l'on voit encore pendant un certain temps les parties plus ou moins grandes de l'ascogone dans les sections du jeune périthèce. (Fig. 5, 6, 7, Pl. VIII). A certains endroits (fig. 6, Pl. VIII), on remarque que l'ascogone semble être renflé d'un côté et que par conséquent son diamètre n'est pas partout constant. Une coupe effectuée dans des conditions exceptionnellement favorables nous a permis de voir de quoi il s'agit dans de pareils cas (Pl. VIII, fig. 8). On y voit nettement l'origine des hyphes ascogènes, qui sont représentées par les branches latérales de l'ascogone qui n'est pas cloisonné. Leur aspect caractéristique est le même que celui de l'ascogone et ne laisse pas de doute sur leur nature. Quant aux noyaux nous avons bien vu le cas où ils sont rapprochés l'un de l'autre, mais ce rapprochement est accidentel. Rien ne nous autorise à les considérer comme des synkaryons parce que ce sont là des cas exceptionnels et rares. Nous soulignons cette constatation car elle est diamétralement opposée à celle qui ressort de l'étude de *C. fimbriata.*

Le développement ultérieur des périthèces. — Avant de passer au développement ultérieur des périthèces, il est nécessaire de dire quelques mots en général sur les hyphes dites ascogènes. Ce sont les hyphes qui prennent leur naissance à partir d'un organe caractéristique qui est l'ascogone. Elles peuvent être plus ou moins ramifiées et forment les asques à leur extrémité directement ou par l'intermédiaire de crochets. Mais l'évolution de ces hyphes n'est pas toujours aussi simple et typique qu'on la trouve chez certains Discomycètes. *(Pyronema* sp.). Elles peuvent subir des complications différentes qui coïncident avec un changement général de l'aspect du jeune périthèce. C'est le cas du *Ceratostomella piceae* et

nous retrouverons des phénomènes analogues chez *Cordyceps militaris* comme chez *Xylaria*. Pour le moment nous nous contenterons d'indiquer qu'à la base des périthèces, se forme un tissu plectenchymateux à partir duquel paraissent se former les hyphes ascogènes proprement dites. Cet état de choses a permis d'affirmer jadis pour certaines espèces (alors qu'on ne connaissait pas encore exactement l'ontogénie de leurs périthèces), que les asques prennent naissance à partir des cellules végétatives. Ces constatations préalables étant faites, nous pouvons continuer notre descriptions du développement des périthèces chez *Ceratostomella piceae*.

Les hyphes ascogènes changent d'aspect en se développant progressivement de telle sorte qu'il n'est pas facile de les identifier. On trouve ordinairement dans le centre du périthèce de grosses cellules polyénergides tandis qu'à la périphérie les parois du périthèce commencent à se former à la suite des soudures des hyphes périphériques qui deviennent de plus en plus brunes (Pl. VIII, fig. 9, 10). Cette couleur est noire quand on regarde le périthèce à l'œil nu ou sous faible grossissement. Dans sa partie supérieure le périthèce commence à former son col qui devient de plus en plus long. Il se compose de cellules parallèles entre elles. Les cellules périphériques du col prennent bientôt un aspect analogue à celui des cellules qui composent les parois du périthèce. Par contre celles qui se trouvent dans la partie centrale, subissent avec l'âge une gélification progressive de telle sorte qu'au moment de la maturité du périthèce, ces cellules sont remplacées par un canal central qui permet aux ascospores de sortir. Au sommet du col on trouve des appendices blanchâtres formés par les hyphes des parois. Le col une fois formé est relativement très long; ce qui constitue une des caractéristiques du genre.

A ce stade on trouve que les grandes cellules polyénergides du centre sont situées à la base du périthèce. Nous ne pouvons nous prononcer sur la véritable forme de ces

cellules n'ayant pu obtenir des coupes parallèles à la base du périthèce.

A un stade plus avancé, on constate l'apparition de la cavité centrale à la base de laquelle on voit le commencement de la formation des jeunes asques. Les autres cellules dans cette région, accusent une dégénérescence qui se manifeste par une gélification (fig. 1 et 2, Pl. IX).

Formation des asques et des ascospores. — Si l'on envisage la répartition des asques à l'intérieur du périthèce, on constate qu'ils sont disposés en un bouquet central plus ou moins divergent. La position centrale des jeunes asques et de tissu ascogène apparaît clairement surtout quand on coupe un périthèce parallèlement à sa base. (Fig. 1, Pl. X). Ils prennent naissance par intermédiaire des crochets à partir des cellules basilaires qui proviennent des hyphes ascogènes. Voilà encore une différence à noter, semble-t-il entre l'évolution de *Ceratostomella piceae* et celle de *Ceratostomella fimbriata*, si les descriptions dues à Elliott correspondent à la réalité.

Quant à *Ceratostomella adiposum*, elle semble former ses asques directement sans l'intermédiaire de crochets d'après les recherches de Sartoris. On n'a aucune raison de douter de ce fait surtout quand on regarde les dessins fournis par cet auteur. Ainsi on trouve dans le même genre des espèces avec ou sans crochets.

La formation des crochets chez *Ceratostomella piceae* est normale. La figure 2, *a-u*, planche X, nous montre la formation des crochets, des asques et des ascospores. On voit d'abord une hyphe binucléée à peine recourbée à son extrémité (fig. *a*). Un peu plus tard, cette hyphe affecte nettement la forme d'un crochet (fig. *b*) et possède toujours deux noyaux. A la suite des mitoses on trouve bientôt quatre noyaux (fig. c, *d*). Ces mitoses ne sont pas nécessairement conjuguées comme nous avons pu le constater. Un de ces noyaux peut se diviser avant ou après



Fig. 10. — *Ceratostomella piceae*. Jeunes asques disséminés dans la cavité centrale.

l'autre. Le crochet se divise par des cloisons perpendiculaires en trois cellules (fig. *e*, *f*). La cellule centrale possède deux noyaux, les autres n'en ayant qu'un (fig. *g*). La cellule centrale ne tarde pas à former l'asque. Nous croyons aussi avoir relevé des indices tendant à montrer que les deux autres cellules peuvent fusionner comme c'est le cas chez *Pyronema* sp., et former un autre asque.

Dans le jeune asque se produit la fusion dangeardienne (fig. *l*), à la suite de laquelle se forme le noyau double. Les figures *h*, *i*, *j*, *k*, nous montrent un asque dans lequel deux noyaux sont rapprochés l'un de l'autre avant cette fusion. On voit à la base d'un de ces asques (fig. *k*), qu'il se trouve en relation avec un crochet atrophié d'où il dérive.

Après trois divisions successives le noyau double fournit huit noyaux autour desquels s'organisent les ascospores (fig. *m-u*). Le mode de formation des ascospores est très difficile à suivre pas à pas, vu la faible grandeur des objets à examiner. Mais ici comme partout ailleurs, dans les asques il s'agit de la formation libre. La figure *q*, représente un stade où les huit noyaux semblent être un peu allongés. C'est probablement le commencement de la formation des ascospores. Les jeunes ascospores encore en voie de formation sont très chromophiles et difficiles à différencier (fig. *r*). Elles se présentent sous la forme de bâtonnets légèrement recourbés et fortement colorés. Les ascospores une fois mûres sont allongées et possèdent un noyau (fig. *s*). Les ascospores sont mises en liberté par la gélification de la membrane de l'asque (fig. *t*, *u*).

Les asques se détachent immédiatement avant la maturation de leurs ascospores de telle manière qu'on les trouve libres dans la cavité centrale du périthèce (fig. 10, page 83). Ils se gélifient quand les ascospores deviennent mûres. Cette gélification atteint aussi les cellules qui forment la couche intérieure des parois des périthèces. Dans cette masse mucilagineuse sont dispersées les ascospores. La figure 11, page 85, représente ce stade de maturité

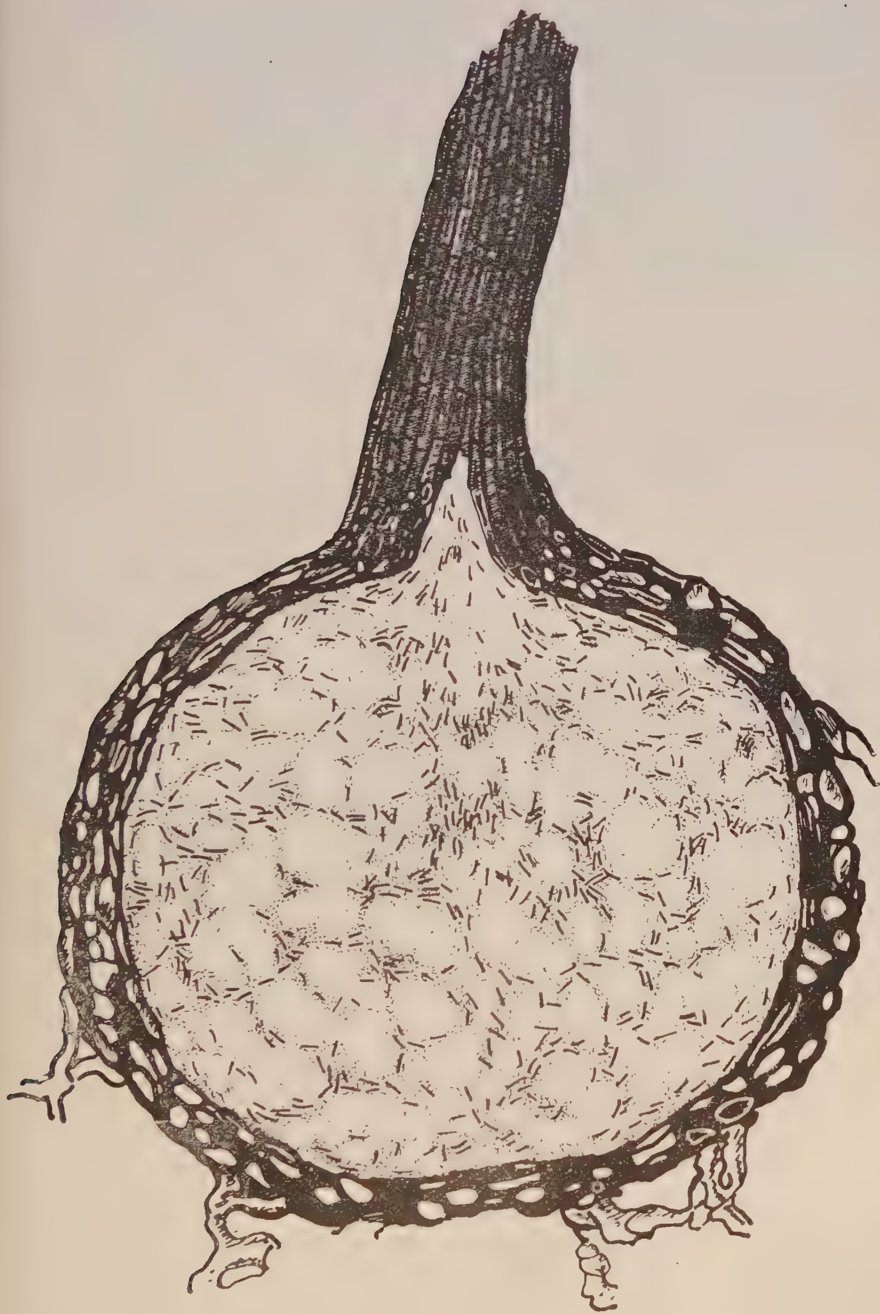


Fig. 11. — *Ceratostomella piceae.* Ascospores dispersés dans une masse mucilagineuse à l'intérieur du périthèce.

du périthèce. La couche externe de la paroi du périthèce, est fortement colorée et persiste seule. Toute la cavité du périthèce est remplie par cette masse mucilagineuse dans laquelle se trouvent les ascospores. Cette masse forme au sommet du col une gouttelette blanchâtre qui sera ensuite dispersée au hasard pour trouver un milieu favorable permettant aux ascospores de recommencer le cycle ontogénique.

II. **Cordyceps militaris** (L.) Link

Introduction. — Le genre *Cordyceps* est constitué par des espèces très intéressantes qui poussent ordinairement sur différents insectes. Cette particularité a fait jadis courir les bruits les plus extraordinaires dans le monde scientifique. On a parlé, par exemple d'insectes se transformant en plantes. Mais heureusement depuis ce temps nos connaissances ont avancé et sont devenues beaucoup plus précises sur ce sujet à la suite de nombreuses recherches.

C'est ainsi qu'on a étudié le développement des périthèces chez certaines espèces de ce genre. Nous citons seulement ici les travaux de Lewton-Brain sur *Cordyceps ophioglossoides* et ceux de Fisch, qui a étudié entre autres Ascomycètes *Cordyceps militaris*, *C. ophioglossoides* et *C. capitata*. Ces excellents travaux sont insuffisants si on les envisage au point de vue du développement parce qu'ils ont porté sur des échantillons presque mûrs. Ce n'est pas étonnant car on trouve rarement les espèces du genre *Cordyceps* en une grande quantité et dans un état propice, permettant d'entreprendre de pareilles recherches (1).

Aussi avons-nous profité de récoltes particulièrement

1. On peut trouver quelquefois des stations où l'on rencontre ce Champignon en quantités relativement considérables. En réalité *Cordyceps militaris* peut provoquer d'après Zopf (**144**) une véritable épidémie parmi les chenilles et chrysalides d'insectes nuisibles.

abondantes de *Cordyceps militaris* pour étudier tous les stades de son développement. Ce Champignon se développe sur une chrysalide enfoncée dans la mousse humide à une profondeur de 2-3 mm.

D'après Tulasne, *Isaria farinosa* est la forme conidienne du *Cordyceps militaris*. Ici nous laisserons de côté cette forme conidienne. Ce qu'il importe pour nous c'est le développement des périthèces. Lorsqu'on envisage l'ensemble des Ascomycètes, on constate qu'il en existe deux sortes : les simples et les composés ; si l'on connaît assez bien l'origine de périthèces chez les premiers, il n'en est pas de même en ce qui concerne les seconds. *Cordyceps militaris* est une espèce composée comme toutes les autres que nous étudierons encore dans ce mémoire.

Formation du stroma et sa signification. — Les chrysalides sur lesquelles nous avons trouvé ce Champignon étaient dans un tel état qu'il était impossible de déterminer l'espèce à laquelle elles appartenaient. Dans les coupes effectuées dans n'importe quel sens, on constate que la chrysalide est complètement momifiée par les hyphes du Champignon. Dans cet état elle peut être comparée au sclérote de *Claviceps purpurea*. Ce sclérote produit un ou plusieurs stipes sur lesquels se forment les périthèces. La figure 12, page 88, représente les différents stades de formation d'un stipe. Au commencement le stipe se compose d'un tissu homogène (fig. 12, *a*). Mais bientôt on constate qu'il se produit une différenciation en une partie fertile et une partie stérile (fig. 12, *b*). La différenciation va s'accentuer (fig. 12, *c*), jusqu'à maturation des périthèces (fig. 12, *d*).

Voilà comment se produit cette différenciation. Dans sa jeunesse le stipe est formé par des hyphes plus ou moins parallèles entre elles de sorte qu'il se compose d'un tissu homogène et compact. Un peu plus tard à la périphérie de la partie supérieure du stipe se forme une couche qui est

constituée par les hyphes irrégulièrement enchevêtrées entre elles. Cette couche périphérique possède une consistance lâche. Ce tissu d'après son caractère morphologique se distingue facilement sous le microscope de la partie centrale du stipe. C'est dans cette couche périphérique qu'apparaissent les ébauches des jeunes périthèces. Au fur et à mesure de leur développement cette différence entre la partie stérile et la partie fertile du stipe devient de plus

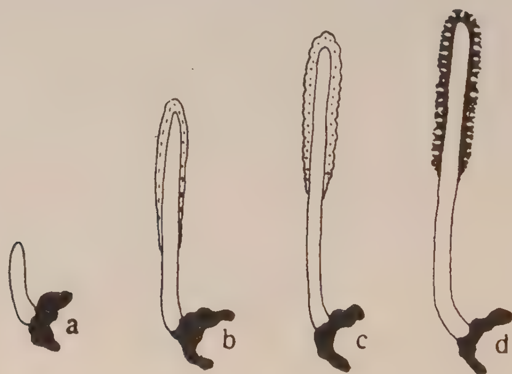


Fig. 12. — *Cordyceps militaris*. Formation du stroma.

en plus évidente. Quand les périthèces sont mûrs on peut facilement détacher cette couche ascigère de la partie stérile du stipe. Les parois externes des périthèces sont formées par le concours des hyphes appartenant à cette couche extérieure comme nous allons le voir encore.

Nous avons insisté sur la formation du stroma parce qu'on indique souvent qu'on peut distinguer deux séries dans le genre *Cordyceps*. La première est caractérisée par des périthèces saillants, tandis que la seconde possède des périthèces enfoncés dans une couche bien définie comme c'est le cas pour *Cordyceps militaris*. D'autre part il faudrait voir comment se forment les périthèces dans la seconde série. S'il y a une formation semblable à ce qu'on trouve chez *Cordyceps militaris*, ou bien si la formation des périthèces ressemble dans certaines mesures à la formation

des périthèces telle qu'on la trouve chez les *Xylaria*. Dans ce dernier cas on peut baser la différenciation de ces deux séries sur les caractères anatomiques ; la division du genre *Cordyceps* y gagnerait ainsi en précision. En même temps on pourrait vérifier s'il y a identité entre le stroma des *Cordyceps* et celui des *Xylaria* comme l'a pensé Ruhland.

En 1926 a paru un travail de Hilitzer dans « Preslia » (**88**), sur la valeur morphologique des différentes parties du corps fructifère chez les Champignons. Mais à notre avis il faut multiplier encore les observations positives avant de tirer une conclusion quelconque.

Quoi qu'il en soit c'est un sujet d'études spéciales qui dépasse le cadre que nous nous sommes proposé. Nous nous contentons d'attirer sur ce point là l'attention des Mycologues compétents.

La formation de l'ascogone et son développement ultérieur. — Chaque chambre contenant les asques montre à son début un filament plus ou moins renflé, dont l'extrémité ne renferme qu'un seul noyau (fig. 13 *a*, page 90), c'est l'ascogone ; on le remarque au milieu des autres filaments qui l'entourent, par son cytoplasme très dense et fortement chromatique : le noyau lui-même est plus gros que les noyaux ordinaires et il se distingue, d'autre part, par son nucléole relativement volumineux.

Nous soulignons cette constatation parce que jusqu'à présent on a pensé que les hyphes ascogènes prennent naissance chez les *Cordyceps*, à partir des cellules végétatives (Fisch, Gwynne-Vaughan).

Cet ascogone, devient plurinucléé au fur et à mesure qu'il s'allonge en se recourbant ou se contournant plus complètement (fig. 13 *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, *h*) ; parfois les noyaux sont rapprochés par paires ; mais il s'agit d'une apparence due à une division récente et non à de véritables synkaryons. Il est important de noter qu'à aucun moment ces ascogones n'entrent en communication

directe avec un second filament copulateur : il n'existe donc dans le *Cordyceps militaris* aucun vestige de sexualité à ce niveau. Très exceptionnellement, par suite du rapprochement de deux ascogones, on pourrait avoir l'impression qu'il existe une copulation entre ces deux organes ; mais ce n'est qu'une apparence ainsi qu'on peut le vérifier

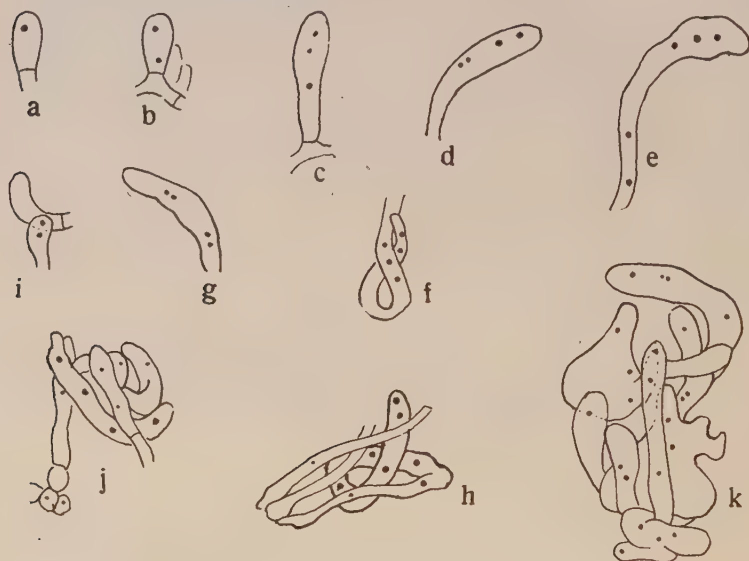


Fig. 13. — *Cordyceps militaris*. Développement de l'ascogone.

très facilement (fig. 13 *i*). Sans doute des cas analogues ont-ils été interprétés inexactement.

Avec le concours des hyphes végétatives, l'ascogone commence à former des pelotons (fig. 13 *j*). Ces hyphes prennent un aspect semblable à celui de l'ascogone. A ce stade, on ne peut guère distinguer l'ascogone qu'à sa dimension un peu plus grande et à ses noyaux un peu plus volumineux. Bientôt l'ascogone se renfle et forme un sac à partir duquel les hyphes ascogènes se développent (fig. 13 *k*) ; des noyaux s'engagent dans ces ramifications et l'on trouve aussi des noyaux disposés par paires, surtout aux stades assez avancés où les pelotons

deviennent de plus en plus grands ; on peut trouver aussi les restes des ascogones en voie de disparition.

Mais ces hyphes que nous appelons ici ascogènes ne sont pas ascogènes à proprement parler. Elles subissent encore une transformation comme nous allons le voir et c'est seulement après que se forment les véritables hyphes ascogènes, à l'extrémité desquelles se forment les asques. La figure 1, Planche XI, représente un de ces pelotons. Les hyphes dont il est composé sont ramifiées. Elles se distinguent nettement par leur aspect des autres hyphes végétatives et leurs noyaux sont relativement très grands. Bientôt on peut constater dans le peloton deux parties différentes (fig. 2, Pl. XI). La partie supérieure correspondant à la partie apicale du périthèce mûr, la partie inférieure correspondant à la base.

Il nous semble évident que la partie supérieure provient des hyphes végétatives parce qu'elle fournit les premiers éléments des futures parois du périthèce. La partie basale par contre est formée par les hyphes provenant de l'ascogone, et sont transformées en grandes cellules polyénergides.

La formation des hyphes ascogènes proprement dits et des asques. — A un moment donné on assiste à la formation des hyphes ascogènes à partir de ces grandes cellules polyénergides situées à la base du jeune périthèce (fig. 1, Pl. XII). Ces hyphes forment les asques par l'intermédiaire du crochet (fig. 1, Pl. XIII). Ce procédé est assez compliqué et est difficile à suivre dans les préparations coupées au microtome. Nous allons donner quelques détails obtenus au cours d'observations favorables.

On voit que les hyphes ascogènes forment des crochets typiques dans lesquels on trouve deux noyaux. Ces noyaux se divisent simultanément ou l'un avant l'autre. Quoi qu'il en soit le résultat final est le même. On trouve

dans le crochet quatre noyaux (fig. 2, Pl. XIII). Peu après la division des noyaux le crochet se divise en trois cellules. L'avant-dernière de ces cellules possède deux noyaux. Elle peut former un asque ou (fig. 3, Pl. XIII), fournir à son tour un nouveau crochet. Les deux cellules latérales se fusionnent et produisent une nouvelle cellule à deux noyaux, qui peut aussi fournir un nouveau crochet ou un asque. Les cellules sous-jacentes, binucléées sont capables de subir la même évolution et on voit qu'une hyphe ascogène peut donner naissance à des formations assez compliquées (fig. 4, Pl. XIII).

Plus tard nous pouvons constater un phénomène assez intéressant. Pendant que les hyphes ascogènes forment des crochets et des asques à leur partie supérieure, elles subissent à la partie inférieure une désagrégation, de telle sorte, qu'au moment de la maturation des ascospores la base des périthèces est occupée par une masse de cellules amorphes à peu près vidées de leur contenu. Chaque hyphe ascogène forme comme une sorte de bouquet d'asques. Dans certains périthèces nous avons trouvé parmi les asques de grosses cellules beaucoup plus courtes qui se sont formées à la place des asques. Leur contenu est plein de plasma renfermant des globules très chromophiles de différente grandeur (fig. 5, Pl. XIII). Il est difficile de dire s'il s'agit ici de noyaux dégénérés ou simplement de corpuscules métachromatiques. Ces corps ont parfois des formes bizarres. Ils sont filamenteux ou enroulés en tire-bouchon. Mais leurs contours sont toujours bien définis. On se demande comment il faut interpréter ces cellules ? A notre avis il s'agit simplement dans de pareils cas de formations tératologiques qui n'ont aucun rapport avec le développement normal de cette espèce. Nous les mentionnons seulement à titre de curiosité. Ces cellules ressemblent beaucoup à ce qu'on trouve dans les jeunes périthèces quand les crochets commencent à se former. A ce moment là on trouve à la périphérie et parmi les hyphes

ascogènes, les autres hyphes végétatives composées de cellules très élargies à la base et plus élancées vers le sommet. Ce sont elles qui forment au commencement les véritables parois du périthèce.

L'évolution nucléaire dans les asques et la formation des ascospores. — Les espèces du genre *Cordyceps* ont des spores filiformes et pluricellulaires qui peuvent se désagréger en cellules dont elles sont composées. La formation de ces spores a été étudiée surtout par Lewton-Brain chez *Cordyceps ophioglossoides*.

Mais les résultats obtenus ne sont pas assez complets pour être satisfaisants, ce qui n'est pas étonnant vu les difficultés du sujet. R. Maire qui a étudié l'évolution nucléaire dans les asques et la formation des ascospores chez beaucoup d'espèces a porté son attention aussi sur *Cordyceps (Torrubia) capitata*. Mais faute de matériel, il n'a pas pu suivre ces phénomènes dans tous leurs détails.

Nous allons exposer dans les lignes qui vont suivre les différents stades de cette évolution dans la mesure où nous les avons trouvés. Le jeune asque possède d'abord deux noyaux. Plus tard on peut constater un rapprochement entre ces noyaux. A ce stade, ils sont assez petits et présentent un aspect homogène. La hyalosphère d'abord à peine perceptible autour des noyaux est maintenant bien visible. On trouve un petit granule à côté de chaque noyau (fig. 6, 7, Pl. XIII). C'est probablement le centrosome. A la suite de la fusion dangeardienne, ces deux noyaux forment un noyau double qui est relativement très grand et homogène et dans lequel on ne distingue pas de réseau chromatique (fig. 8, Pl. XIII).

Avant d'entrer en division le noyau double est le siège de phénomènes dont la signification n'est pas tout à fait claire et qui se placent chronologiquement entre la fusion des noyaux primaires et la prophase de la première division (fig. 9, Pl. XIII). Nous donnerons plus tard une des-

cription plus détaillée de ces phénomènes dans un mémoire spécial.

Nous avons rencontré assez souvent le fuseau de la première mitose dans une préparation réussie. Mais celle-ci ayant été accidentellement détériorée, nous ne donnons pas les figures qui la concernent n'ayant pu les faire. Nous pouvons seulement indiquer qu'on trouve dans la plaque équatoriale deux chromosomes qui vont se diviser un peu plus tard. Les figures 10-16, pl. XIII, représentent les différents stades de trois divisions successives, à la suite desquelles se forment huit noyaux. On trouve toujours à la plaque équatoriale avant la scission deux chromosomes. C'est le nombre de l'espèce. On trouve souvent chez les Ascomycètes que les fuseaux de la troisième division sont orientés dans un sens perpendiculaire par rapport à celui des deux premières mitoses. Mais ici les fuseaux de la troisième division sont parallèles à l'axe de l'asque ou légèrement obliques par rapport à lui comme c'est le cas dans les deux divisions précédentes (fig. 11, 14, 15, Pl. XIII).

Autour de ces huit noyaux vont s'organiser les embryons des futures ascospores. Nous avons dessiné quelques détails de la formation des ascospores. Les embryons des ascospores se forment d'après le mode bien connu et décrit pour la première fois par Harper (fig. 17, Pl. XIII). Ces embryons sont elliptiques et uninucléés (fig. 18, Pl. XIII).

Nous savons pourtant que les ascospores sont longues, filiformes et cloisonnées. Par conséquent elles sont composées d'un nombre relativement élevé de petites cellules. Comment se produit cette transformation ? Il est difficile de répondre à cette question, mais elle doit s'accomplir assez rapidement parce qu'on ne trouve que peu de stades intermédiaires. La figure 19, planche XIII, représente un de ces stades permettant de conclure que l'embryon de l'ascospore se cloisonne d'abord et ensuite s'allonge. En outre ces embryons sont légèrement recourbés en forme

de croissant. Chacune de ces petites cellules possède un noyau. Pendant leur formation les ascospores deviennent de plus en plus filiformes. A un moment donné de leur évolution on a l'impression que les ascospores ne sont pas cloisonnées. Cette constatation semble être en contradiction avec tout ce que nous avons dit jusqu'à présent sur la formation des ascospores, et nous croyons que cet aspect ne correspond pas à la réalité. Cette impression provient probablement de ce que les cloisons transversales des ascospores sont à ce stade difficiles à mettre en évidence et peu nombreuses.

On voit plus tard que les ascospores complètement mûres sont vraiment cloisonnées, mais on ne réussit pas à les différencier convenablement. Pour remédier à ce mal il suffit de fixer le matériel à l'alcool absolu et de le colorer à l'Hématoxyline ferrique. De cette façon on obtient de bonnes préparations dans lesquelles on voit nettement que les ascospores sont cloisonnées et que chacune de ces cellules possède un noyau (fig. 20, Pl. XIII). Plus tard les ascospores se désagrègent en cellules dont elles sont composées. Chacune de ces cellules peut donner naissance à un nouveau mycélium.

III. **Nummularia Bulliardi** Tul.

Introduction. — Nous avons trouvé ce Champignon sur un *Fagus* dans les environs de Zagreb en Yougoslavie. A côté de cette espèce se trouvait sur le même arbre *Hypoxylon confluens*, qui était bien développé. Bien que nous ne nous soyons pas occupé d'une manière approfondie des relations qui existent entre ces Champignons et leur support, il nous a paru d'après les apparences extérieures que cet arbre était grièvement atteint et qu'il se trouvait dans un état languissant.

C'est le développement des périthèces de ce Champignon

qui nous a intéressé surtout et nous avons essayé de trouver le premier stade, c'est-à-dire le début de la formation des périthèces. A cet effet nous avons prélevé des échantillons de ce Champignon à différentes époques au cours de deux années (1927-1929) et nous les avons fixés par différents fixateurs. Il n'existe pas à notre connaissance de travaux cytologiques sur le développement de cette espèce.

Le développement du stroma. — *Nummularia Bulliardi* s'est développée dans l'écorce de Hêtre. Les premiers signes de développement sont perceptibles sous forme de légères boursouflures du périderme, grandes de 1 à 2 mm., avec une proéminence de 0,25-0,50 mm. Au fur

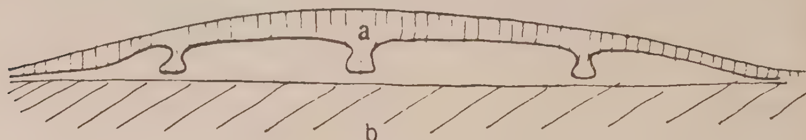


Fig. 14. — *Nummularia Bulliardi.* Séparation de deux couches (*a* et *b*) entre lesquelles se forme le stroma conidien.

et à mesure que le Champignon se développe ces plages deviennent plus grandes. En même temps le Champignon produit sous le périderme une quantité considérable de conidies. A un moment donné le périderme se rompt et les conidies qui forment alors une masse farineuse deviennent libres.

Un examen rapide sous le microscope nous apprend ce qui s'est passé. Le développement de mycélium à l'intérieur de l'écorce produit une certaine irritation qui se traduit par une néoformation parenchymateuse au-dessous du périderme.

Ces cellules se prolongent et affectent une formation prosenchymateuse. Cette néoformation ne se développe pas partout d'une manière uniforme. En certains points les cellules se divisent plus abondamment et forment de petites colonnettes par lesquelles se produit la séparation des deux couches (fig. 14, page 96). La couche extérieure

est représentée par le périderme et la néoformation pathologique *(a)*, tandis que la couche intérieure est formée par l'écorce proprement dite *(b)*. L'espace ainsi formé entre ces deux couches permet au Champignon de développer un stroma conidien qui produit une grande quantité de conidies rondes, hyalines et possédant chacune un noyau. La figure 15, page 97, représente une partie du stroma.

Dans les préparations on voit nettement que le mycé-

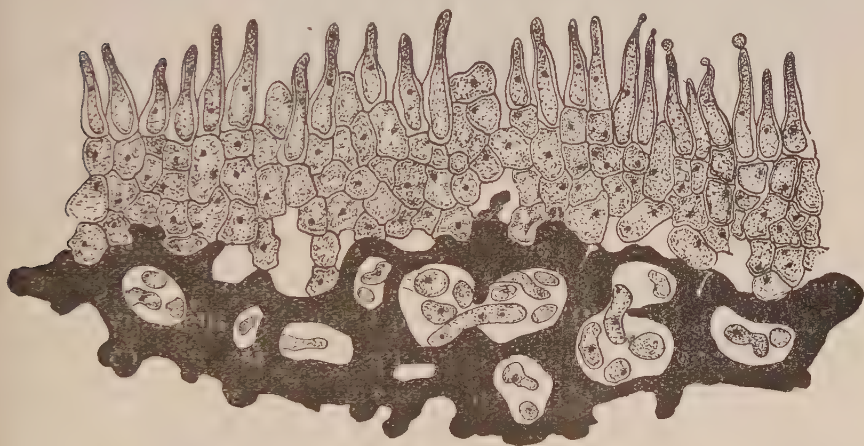


Fig. 15. — *Nummularia Bulliardi*. Stroma conidien

lium utilise les voies de moindre résistance, c'est-à-dire qu'il emprunte les pores pour pénétrer dans les cellules aux membranes épaisses. Pendant ce temps il se forme à l'intérieur de l'écorce un autre stroma, qui produit les périthèces ; d'abord blanc, il devient ensuite de plus en plus foncé jusqu'au moment où il est tout à fait noir et dans les coupes effectuées dans le sens perpendiculaire, à la surface de l'écorce, il présente un aspect pseudoparenchymateux. Les deux stromas sont parallèles à la surface de l'écorce.

Comme nous l'avons déjà dit ce second stroma, au sein

duquel se forment les ébauches des jeunes périthèces, se trouve à l'intérieur de l'écorce. Au cours de son développement ultérieur la partie de l'écorce située entre ces deux stromas meurt, comme le stroma conidien qui se désorganise ensuite.

Il y a pendant l'hiver, une période de repos et, au printemps suivant le Champignon reprend son développement. Toutes les parties mortes et désorganisées du tissu à l'extérieur de ce second stroma au sein duquel se forment les périthèces se détachent à la suite de la pression exercée par ledit stroma qui poursuit activement son développement. A ce moment il est déjà bien développé et il apparaît libre à la surface. Il est étalé, un peu proéminent et forme des croûtes noires plus ou moins grandes avec beaucoup de pointes très fines. Ce sont les ostioles par lesquelles se déchargent les ascospores mûres.

Si l'on examine un échantillon de ce Champignon pendant l'été ou à l'automne, on y trouve les jeunes ébauches des périthèces qui se présentent comme des pelotons au milieu desquels on trouve les hyphes beaucoup plus grosses comme, par exemple, chez différentes espèces du genre *Xylaria* ou *Hypoxylon*. Ce sont les hyphes dites de *Woronin*. Qu'est-ce que nous représentent en réalité ces hyphes ? Nous pouvons dire tout de suite que les *Hyphes de Woronin* représentent un état du développement de l'ascogone.

La formation de l'ascogone et son développement. — Le jeune ascogone apparaît au milieu des cellules du stroma au moment où elles ne sont pas encore colorées en brun ou quand elles sont à peine colorées. Nous avons déjà indiqué que ce stroma présentait un aspect pseudoparenchymateux, mais il possède une consistance plus lâche à l'endroit où l'ascogone va se former. L'ascogone est une petite cellule monucléée légèrement allongée et recourbée au sommet (fig. 1, 2 ; Pl. XIV).

Il prend les différents colorants avec plus d'intensité et à ce point de vue il se comporte comme tous les organes initiaux chez les autres Ascomycètes. Les figures 3-6, planche XIV, représentent les stades successifs de son développement. On voit l'ascogone s'enrouler puis se cloisonner et former bientôt un petit peloton entouré par des hyphes légèrement enchevêtrées, de sorte que dans les coupes examinées sous le microscope elles attirent l'attention par leur aspect caractéristique. Ces hyphes sont produites par les cellules qui entourent le jeune ascogone, et ne sont pas aussi riches que lui en protoplasme. D'ailleurs l'ascogone possède des cellules plus grandes, ce qui le rend très visible au milieu de ces hyphes.

L'ascogone ne possède d'abord qu'un seul noyau, mais leur nombre augmente à la suite de nombreuses divisions. Au moment où il est déjà cloisonné, on trouve plusieurs noyaux dans chaque article, où ils sont disséminés assez irrégulièrement. De temps en temps on trouve des noyaux rapprochés mais en général ils ne présentent aucun aspect caractéristique. On voit qu'ici les *Hyphes de Woronin* sont polyénergides. Dans sa jeunesse l'ascogone possède partout le même diamètre, mais ensuite les articles grandissent et grossissent en demeurant rétrécis au niveau des cloisons. On peut s'assurer qu'il s'agit bien d'un seul ascogone dans les coupes épaisses, et bien orientées par hasard ; mais ces cas sont l'exception et ordinairement on n'en voit seulement que des portions plus ou moins grandes.

Nous ne pouvons pas donner de détails sur l'évolution ultérieure de cet ascogone. Mais nous supposons que l'ascogone va fournir les hyphes ascogènes avec leurs asques, qui à leur tour donnent naissance aux ascospores.

Quoi qu'il en soit, nous avons démontré qu'il y a un ascogone à l'origine de chaque périthèce dans cette espèce. A un stade plus avancé de son développement cet ascogone ressemble beaucoup à ceux qu'on trouve chez *Xylaria polymorpha*, comme nous le verrons plus tard.

IV. **Xylaria polymorpha** (Pers.) Grev.

Introduction. — Les espèces du genre *Xylaria* ont été étudiées à plusieurs reprises au point de vue du développement de leurs périthèces. Il serait trop long de citer tous les résultats obtenus par les anciens auteurs comme de Bary, Brefeld, Fisch, Füisting, Tulasne, etc. Nous nous contentons de résumer ici les travaux de ces auteurs aussi brièvement que possible. A. de Bary a décrit le développement des périthèces chez *Xylaria polymorpha*. Peu après Fisch s'est occupé du *X. polymorpha* et *X. hypoxylon*. Il a aussi étudié le développement de leurs périthèces. Brefeld s'est consacré aux cultures de différentes espèces de *Xylaria* et à leur morphologie plus qu'au développement des périthèces. Les recherches de Füisting, quoique très consciencieuses, sont insuffisantes. Pourtant, il faut rendre justice à ces auteurs parce qu'à l'époque de leurs travaux, il était difficile de faire mieux. Je crois être d'accord avec tous les mycologues en disant que l'œuvre des frères Tulasne « *Selecta fungorum carpologia* » mérite une entière admiration. Ce travail est particulièrement remarquable, au point de vue descriptif et iconographique. Tulasne s'est occupé entre autres Champignons des *Xylaria*. Il avait déjà remarqué que les périthèces commencent à se former chez ces Champignons au-dessous de la croûte noire du stroma. Mais les méthodes histologiques, seules satisfaisantes pour l'étude du développement des périthèces, sont d'une date plus récente. C'est pour cela que des recherches nouvelles ont été nécessaires.

En 1913 parut un travail intéressant de H.-B. Brown. Cet auteur a étudié avec les méthodes nouvelles *Xylaria tentaculata* B. et Br., *Xylaria trachelina* (Lev.) Cooke et *Xylaria* sp. En outre on trouve à la page 233 d'un (**77**) livre anglais récent de Gwinne-Vaughan et Barnes, la

figure 185 qui représente une section faite dans un jeune périthèce de *Xylaria polymorpha* et à la page 234 la figure 186 qui montre l'archicarpe de la même espèce.

Nous faisons remarquer ici, en insistant sur ce point que tous les autres, y compris H.-B. Brown n'ont pas réussi à montrer d'une manière précise l'origine des *Hyphes de Woronin* qu'on trouve à l'origine du périthèce. C'est pourquoi nous avons abordé ce sujet. Nous avons pris les premiers représentants de ce genre qui nous sont tombés sous la main, c'est-à-dire *Xylaria hypoxylon* (L.) Grev., et *Xylaria polymorpha* (Per.) Grev. Nos recherches sur *X. hypoxylon* n'ont pas été jusqu'à présent tout à fait satisfaisantes parce que nous n'avons pas trouvé tous les stades nécessaires pour retracer l'évolution complète de ce Champignon. Nous reviendrons à cette espèce dans un mémoire ultérieur. Pour le moment nous allons rendre compte de nos études sur *Xylaria polymorpha*.

Nous avons trouvé ce Champignon dans les environs de Zagreb sur une vieille souche d'arbre pourri. Les premiers stades dataient du commencement du mois de juin et depuis cette époque jusqu'au mois de septembre nous avons prélevé des échantillons chaque semaine. De cette manière, nous nous sommes procuré tous les stades voulus pour étudier le développement de cette espèce. Comme fixateurs nous avons employé le Flemming faible qui nous donna toute satisfaction.

Le développement du stroma. — Le jeune stroma est une petite masse cylindrique de 2-3 mm. de longueur et 1 mm. d'épaisseur, de couleur grisâtre et formée par des hyphes plus ou moins parallèles à l'axe longitudinal. Ce stroma s'accroît rapidement et peut finalement acquérir les dimensions assez notables de plusieurs centimètres de longueur sur 1-2 cm. d'épaisseur. A sa surface, se forme une couche conidienne qui produit une grande quantité de conidies hyalines, à 1 ou 2 noyaux. La couche coni-

dienne disparaît avec l'âge et est remplacée par une couche corticale primitivement brune et noircissant un peu plus tard. En général on peut dire que le corps fructifère du *X. polymorpha* est continu et qu'il n'existe pas de différence extérieure entre la partie fertile et la partie stérile comme c'est le cas chez *X. hypoxylon.*

Origine des *Hyphes de Woronin*. — Les ébauches des jeunes périthèces commencent à se former en même temps que les conidies. Elles sont antérieures à la formation de la croûte noire qui recouvre la surface du stroma. Ce sont de petits pelotons constitués par des hyphes assez minces, enchevêtrées entre elles et au milieu desquelles on voit une hyphe enroulée beaucoup plus volumineuse que les autres. C'est l'*Hyphe de Woronin* qui n'est pas autre chose qu'un ascogone évolué. Comment se forme l'ascogone ? Voilà une question à laquelle on n'a pas répondu jusqu'à présent d'une façon satisfaisante. La difficulté réside dans la nature même de l'objet à examiner. Etant donné que les débuts des périthèces se trouvent dans le stroma, c'est-à-dire dans un tissu plus ou moins compact, on est forcé de les examiner dans des coupes faites au microtome. C'est de là que proviennent toutes les difficultés.

De temps en temps on trouve dans le tissu du stroma de grosses hyphes polyénergides et l'on peut se demander si elles ne représentent pas les ascogones. Mais il faut avouer que rien ne nous autorise à être affirmatif. Est-il toujours vrai qu'il faut voir dans de telles hyphes les premiers éléments, qui par leur transformation vont fournir les véritables ascogones ? Voici une raison en faveur de cette supposition. Le plus jeune stade du développement des périthèces qui a pu être identifié comme tel est représenté sur la planche XV, figure 1, 2, 3, 4. On y voit bien une série de cellules d'aspect caractéristique, autour desquelles des hyphes plus fines commencent à s'enchevêtrer. Si l'on examine attentivement la préparation, il semble

presque évident que ces grosses cellules proviennent du cloisonnement d'une grande cellule polyénergide qui doit être à leur origine. Quant aux hyphes qu'on voit autour de cette série de cellules on peut se demander, quelle est leur rôle ? Sont-elles les fragments d'une anthéridie, d'un trophogone ou simplement des hyphes végétatives avec le concours desquelles se forment les pelotons en question ? A notre avis ce sont seulement des hyphes végétatives. Tous les stades initiaux que nous avons examinés semblent confirmer cette manière de voir. Nous les avons étudiées avec un grand soin ; nous les avons dessinées à la chambre claire et on trouvera quelques-uns de ces dessins sur la planche XV. On y voit nettement cette série de cellules caractéristiques, qui peut être plus ou moins grande. Que deviennent ces cellules ? La figure 5, planche XV, nous montre qu'une de ces cellules peut être plus grande que les autres ; elle est allongée et elle possède déjà quatre noyaux. Les autres cellules de la série peuvent avoir un ou deux noyaux. Mais ordinairement elles n'en possèdent qu'un. Elles sont destinées à produire les hyphes végétatives qui contribuent à la formation du jeune périthèce. Sur ce point là, il ne peut exister aucun doute. On peut facilement se rendre compte de ce fait en examinant les préparations. Du reste on voit nettement dans nos dessins faits à la chambre claire que ces cellules fournissent les hyphes végétatives. On voit donc quelle est leur origine.

Les hyphes qui se trouvent dans le voisinage de cette série caractéristique de cellules peuvent se cloisonner également en donnant des séries semblables. Mais les articles dont elles sont composées fournissent seulement les hyphes végétatives qui contribuent à la formation des parois du périthèce. Quant à cette grande cellule qui se trouve dans la série caractéristique, il est difficile de suivre pas à pas sa transformation ultérieure. On peut se demander si elle ne donne pas par cloisonnement des cellule semblables à celles qui composent la série ou s'il ne fauts

pas voir le premier article de la future *Hyphe de Woronin.* Cette deuxième solution nous semble plus vraisemblable si l'on envisage l'évolution des périthèces dans ses grandes lignes. On trouve très souvent qu'une de ces cellules de la série qui est ordinairement plus grande que les autres commence à se recourber au lieu de conserver sa forme ordinaire et forme une branche latérale qui s'enroule (fig. 6, 7, 8, 9 ; Pl. XV). La figure 10, pl. XV, représente un stade déjà assez avancé où l'on remarque nettement un article de la série qui a fourni l'*Hyphe de Woronin.* Nous remarquons qu'à ce niveau on ne trouve jamais la plus légère indication qui nous permettrait de supposer qu'il existe une fusion de ces cellules entre elles ou avec les hyphes voisines, bien que les anastomoses entre les cellules végétatives du stroma ne soient pas rares. A ce stade relativement avancé, on trouve que l'enveloppe formée par les hyphes végétatives autour de ces cellules s'accroît de plus en plus.

Les ébauches des périthèces de cette espèce sont allongées, aussi faut-il les couper dans le sens longitudinal pour se rendre compte de ce qui se passe dans ces premiers stades. Si nous avons par hasard à examiner une ébauche de périthèce, coupée dans le sens perpendiculaire et non dans le sens longitudinal, on a une préparation qui est extrêmement difficile à interpréter, si l'on ne tient pas compte de ce qu'on a vu jusqu'à présent. On voit en effet un peloton d'hyphes assez minces au milieu desquelles, suivant la hauteur à laquelle la coupe a été faite, se trouve une grande cellule plus ou moins ronde, ou une cellule allongée et recourbée qui à un ou plusieurs noyaux (fig. 1, 2, 3 ; Pl. XVI).

Cette difficulté n'existe pas, comme nous l'avons vu dans le cas où l'ébauche du jeune périthèce est coupée parallèlement à la série des cellules caractéristiques. Dans ce cas là on voit nettement les relations qui existent entre ces éléments.

A un stade un peu plus avancé (fig. 4, Pl. XVI), on assiste à l'évolution de cette cellule recourbée, qui commence à s'enrouler. Elle se cloisonne et chaque article possède plusieurs noyaux. C'est l'*Hyphe de Woronin* qui grandit progressivement par accroissement des articles dont elle est composée (fig. 5, Pl. XVI).

La quantité des hyphes végétatives augmente autour de cette formation et le diamètre de ces pelotons devient plus grand (fig. 6, Pl. XVI).La figure 7, planche XVI, représente un peloton attardé dans son développement. Il est serré par ses voisins et plus petit que les autres. Les hyphes végétatives sont plus entrelacées et serrées entre



Fig. 16. — *Xylaria polymorpha.* Un article schématisé présentant un aspect difficile à interpréter.

elles à la périphérie du peloton que vers le centre, où se trouve située l'*Hyphe de Woronin.* Mais bientôt on perd de vue l'ensemble de cette formation, étant donné que nous avons examiné le développement de ce Champignon d'après les coupes faites au microtome ; les coupes plus épaisses faites à la main ne se prêtent pas bien à cette étude. C'est pour cela qu'on n'est pas sûr de quoi il s'agit quand on trouve un aspect comme celui représenté par la figure 16, page 105, dans un peloton déjà assez avancé. Est-ce bien une anastomose contractée entre les articles de l'*Hyphe de Woronin*, ou est-ce une ramification ? De temps en temps on trouve dans le voisinage des cloisons qui séparent les articles un ou deux noyaux (fig. 3, 4 ; Pl. XVII). D'autre part on trouve dans un article, tout près de la cloison, un granule qui ressemble au noyau et

dans l'autre une sorte de calotte (fig. 1, 2 ; Pl. XVII). Cela nous rappelle vaguement ce qu'on voit chez *Pyronema*.

On peut considérer comme règle qu'il n'y a qu'une seule

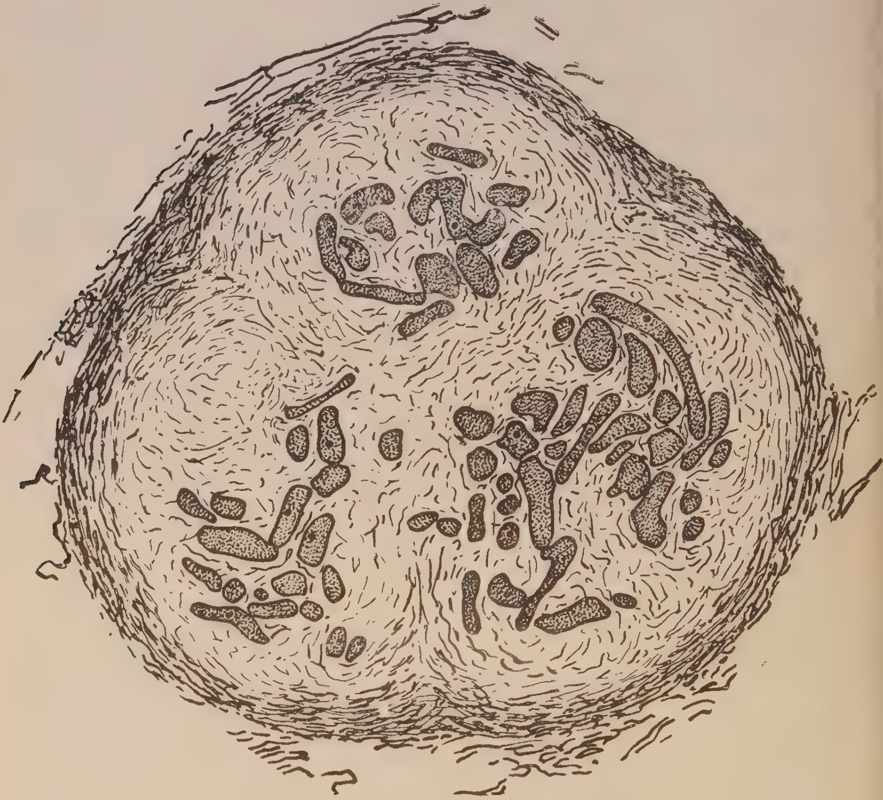


Fig. 17. — *Xylaria polymorpha*. Trois pelotons qui semblent former finalement un seul périthèce.

Hyphe de Woronin dans un jeune périthèce. Mais on peut constater assez souvent que deux pelotons voisins se fusionnent en donnant finalement un seul périthèce. Ce n'est pas tout : dans un cas exceptionnel, nous avons vu trois de ces pelotons qui se fusionnent entre eux comme on peut le voir dans la figure 17, page 106.

Le développement ultérieur des pelotons primordiaux et l'évolution des noyaux dans les articles des *Hyphes de Woronin*. — Dans le chapitre précédent nous avons décrit l'origine des ascogones et montré comment se forment les pelotons dans lesquels ils sont situés. Mais au moment de la formation des asques où l'on ne trouve plus aucune trace de l'ascogone, la structure du périthèce a aussi complètement changé. C'est pourquoi nous avons pris soin de suivre pas à pas toutes les transformations du jeune périthèce pour montrer les relations qui existent entre l'ascogone et les asques étant donné qu'on a prétendu que les asques chez *Xylaria* sp., se forment aux dépens des tissus végétatifs.

Nous savons déjà comment sont faits ces pelotons et nous allons voir maintenant comment ils se transforment en périthèces.

Vers le côté extérieur du stroma, chacun de ces pelotons forme un petit mamelon. Ce sont les futurs cols des périthèces (fig. 2, Pl. XVIII). A l'intérieur de ces pelotons on remarque le changement suivant : l'*Hyphe de Woronin* est située à la partie basilaire de la cavité centrale du périthèce, et le reste de cette cavité est rempli par des hyphes végétatives qui sont fines et plus ou moins enchevêtrées. Parmi ces hyphes, on voit l'*Hyphe de Woronin* découpée au hasard en portions plus ou moins grandes. On peut avoir aussi dans la préparation des articles entiers et cela nous permet de voir qu'ils sont toujours polyénergides. Mais l'aspect des noyaux qui se trouvent dans les articles n'est pas toujours le même.

Que deviennent les noyaux pendant le développement de ces hyphes ? Dans les jeunes stades les noyaux sont relativement petits et irrégulièrement disséminés dans les articles, de telle sorte qu'on ne peut trouver aucune régularité dans leur répartition. La figure 1, planche XVIII, nous représente une préparation dans laquelle les articles de l'*Hyphe de Woronin* sont découpés de telle manière,

qu'on pourrait croire qu'ils sont binucléés. Cette figure est particulièrement intéressante parce qu'elle rappelle en apparence ce qu'on voit chez *Xylaria hypoxylon*. En réalité on constate chez ce Champignon que les articles de l'*Hyphe de Woronin* sont binucléées à un certain stade de leur développement. Mais chez *Xylaria polymorpha* ce n'est qu'une apparence parce que certains noyaux peuvent être groupés par paires. Après un examen attentif de la préparation on peut constater qu'il y a plus de deux noyaux par article. Ce rapprochement entre deux noyaux peut être si grand qu'il semble au premier abord qu'il s'agit d'une fusion entre eux. En outre tous les noyaux ne sont pas de même grandeur. Pour mettre en relief tout l'intérêt de cette constatation il est nécessaire de faire une digression historique.

Abstraction faite de ce que prétendait Harper à propos de *Pyronema confluens*, Fraser à propos de *Humaria rutilans*, Blackman, Fraser et Brooks à propos de *Humaria granulata*, etc., nous voulons rappeler ici ce que Miss Dale a avancé en étudiant le développement des périthèces chez *Aspergillus repens*. D'après Miss Dale on peut retracer ainsi le développement des périthèces chez *Aspergillus repens*. Au commencement se forment les organes initiaux mâles (anthéridies) et femelles (archicarpes). Il semble qu'il ne s'établit aucune communication entre ces organes. Aussi l'anthéridie manque le plus souvent complètement. L'archicarpe qui est polyénergide ne tarde pas à s'enrouler. Il se cloisonne et chaque article qui possède deux ou plusieurs noyaux peut donner naissance aux hyphes ascogènes. Aux stades avancés du développement de l'archicarpe tous les noyaux n'ont pas la même grandeur. Miss Dale explique ainsi cet état de choses (**23**, p. 220) :

« A comparison of different stages shows that the variation is chiefly due *to the fusion in pairs of the original nuclei of the ascogononium*, so that the largest nuclei are *fusion nuclei*. But apparently the nuclei grow, both before and

after fusion, as there are variations in size not only amongst the smaller single nuclei but also amongst the larger fusion nuclei » ; elle ajoute la conclusion suivante (**23**, p. 220) :

« Since a fusion of the ascogonium and the antheridium apparently never occurs, even when the antheridium is developed, it follows that the fusing nuclei are all of one sex, female, and that the fusion indicates a reduced form of sexuality ».

Dans le chapitre sur la sexualité des Ascomycètes du même travail Miss Dale cherche à élargir les résultats obtenus en étudiant *Aspergillus repens* et dit (**23**, p. 224) : « My work on *Aspergillus* has, however, confirmed my opinion that nuclear fusion does occur in the ascogone of *Gymnoascus*, after its fusion with the « sterile cell », in spite of Dangeard's statements that in the *Gymnoascaceae* the sexual organs are no longer functional, and that, even in cases where he has himself seen the union of two cells this is not followed hy a fusion of nuclei. »

Nous ne voulons pas reprendre cette vieille controverse puisque nous n'avons pas examiné ces espèces et par conséquent nous ne pouvons rien en dire. Mais il est utile de constater que dans le cas où on n'a pu mettre en évidence la fusion entre les organes initiaux qui doit être suivie de près par la fusion des noyaux, on a cru trouver une fusion des noyaux par paire dans l'*archicarpe*.

A titre d'indication nous rappelons que M. F. Moreau a aussi étudié ce Champignon. [*Aspergillus* (= *Eurotium*) *repens* de Bary]. Il a examiné l'ascogone et son évolution ultérieure et constaté (**109**, p. 100) : « Nous n'avons rencontré *aucune fusion de noyaux* à ce stade ». D'après lui (**109**, pp. 100-101) : « L'histoire du périthèce d'*Aspergillus repens* comporte donc *une seule* fusion de noyaux qui précède immédiatement la formation des ascospores ; la fusion nucléaire qui autrefois avait lieu dans les gamétanges, après leur union a subi un retard et a été repoussée jusque dans les asques.

Une autre espèce d'*Aspergillus* encore indéterminée nous a fourni les mêmes résultats.

La reproduction sexuelle de ces deux espèces présente donc les caractères essentiels de l'*Eurotium herbariorum*, décrit par Dangeard (1906) ».

Pourtant nous avons été obligé de rappeler ici ces assertions parce que nous avons trouvé chez *Xylaria polymorpha* quelque chose de semblable à ce que Miss Dale trouva en étudiant *Aspergillus repens*. Dans les jeunes articles de l'*Hyphe de Woronin* les noyaux sont assez petits et à peu près de la même grandeur. Ils possèdent un aspect homogène, parce qu'ils se présentent comme des points très chromophiles qui peuvent posséder une hyalosphère à peine visible (fig. 1, 2, Pl. XVII). Plus tard on peut constater que certains de ces noyaux sont devenus plus grands que les autres (fig. 3, 4, 5, Pl. XVII). La figure 6, pl. XVII, représente un article dans lequel on peut voir des noyaux de différentes grandeurs. Comme nous l'avons déjà indiqué, on peut trouver de temps à autre dans certains articles deux noyaux très rapprochés (fig. 7, Pl. XVII). Plus tard, on trouve dans les articles à côté des petits noyaux ordinaires, de très grands noyaux qui possèdent un grand nucléole et un réseau chromatique (fig. 8, Pl. XVII). De pareils stades semblent être favorables à une interprétation analogue à celle de Miss Dale à propos de *Aspergillus repens*. Nous avons examiné une grande quantité de préparations sans pouvoir constater franchement une fusion entre deux noyaux qui ont été rapprochés l'un de l'autre. Cependant ce fait n'exclut pas *a priori* la possibilité que la fusion se produise à un certain moment. Mais le fait seul qu'il existe un rapprochement entre les noyaux ne suffit pas pour tirer la conclusion qu'il y a nécessairement une fusion. Il n'est pas rare de trouver des cas où sont réunis plus ou moins étroitement non seulement deux noyaux mais quatre (voir fig. 2, 9, 10, 11 ; Pl. XVII). Ce rapprochement des noyaux peut exister avant comme après

le changement de leur aspect. Comment se produit cet agrandissement des noyaux ? Nous allons essayer de répondre à cette question. D'abord on constate que les noyaux deviennent plus grands, mais ils présentent toujours un aspect homogène. A un moment donné on voit apparaître dans le voisinage de chaque noyau un petit point bien coloré (fig. 12, Pl. XVII). Nous avons montré chez *Ascoidea rubescens* que les noyaux se présentent sous cet aspect après la mitose dans les hémiasques. Le petit point à côté des noyaux doit être interprété comme un centrosome. Il est difficile de se prononcer définitivement à cet égard d'autant plus que nous n'avons pas trouvé les stades intermédiaires permettant d'établir la succession exacte. Malgré cela les préparations examinées nous donnent une idée de l'évolution de ces noyaux. Les noyaux deviennent bientôt plus grands et entourés d'une hyalosphère (fig. 9, 10, 13 ; Pl. XVII). Ces noyaux augmentent encore leur volume tandis que leur contour devient plus ou moins elliptique et qu'il apparaît un réseau chromatique (fig. 8, 11, 14 ; Pl. XVII). Les noyaux méritent d'être examinés avec la plus grande attention à ce stade, car le réseau chromatique peut présenter différents aspects. Un des aspects des plus intéressants est celui où la masse chromatique forme un peloton (fig. 15, 16, Pl. XVII). A ce moment-là, si la préparation est légèrement surcolorée, on a l'impression qu'il s'agit de deux noyaux qui sont en voie de se fusionner (fig. 16, Pl. XVII). Mais en examinant attentivement de telles préparations on remarque tout de suite qu'un de ces globules est coloré plus fortement que l'autre. Le premier a un pourtour régulier, ce qui n'est pas le cas de l'autre, dans lequel on peut remarquer en outre quelques granules plus foncés. Ceci nous permet de distinguer le nucléole de la masse chromatique et par conséquent on arrive à une certitude dans l'appréciation de pareilles préparations. C'est pour cela que nous pouvons dire qu'il n'existe pas à ce niveau une fusion entre les noyaux.

La figure 17, pl. XVII, n'est pas facile à interpréter On y voit un de ces grands noyaux tout à fait homogènes. C'est peut-être un noyau qui est semblable à ceux qu'on voit représentés dans la figure 16 de la même planche ; seulement il n'est pas bien différencié. Les figures 18, 19, 20, 21 ; pl. XVII, représentent le commencement de la mitose. A un stade qui est incontestablement plus avancé que ceux que nous avons décrits, les articles contiennent un nombre plus élevé de noyaux plus petits (fig. 22, Pl. XVII). Sans doute les noyaux ont traversé une période de grande activité qui se manifeste par leurs divisions successives. On a l'impression que l'agrandissement des noyaux correspond à un stade préparatoire dans lequel on voit augmenter la quantité de matière chromatique nécessaire pour une série ininterrompue et rapide de mitoses qui fournit la quantité de noyaux relativement élevée nécessaire à la transformation de ces articles.

L'aspect de ces petits noyaux est exactement le même que celui qu'on trouve dans les jeunes articles. Pendant l'agrandissement des noyaux un certain nombre d'eux semblent toujours garder leur aspect primordial (fig. 4, 8, 11, Pl. XVII). On peut se demander si ces noyaux sont dégénérés ou seulement retardés dans leur évolution. D'après tout ce que nous avons vu jusqu'à présent, on peut dire que leur aspect seul ne suffit pas à établir une conclusion décisive en faveur de fusions entre ces noyaux.

L'origine des hyphes ascogènes et la formation des asques. — A un moment donné on remarque que les articles de l'*Hyphe de Woronin* commencent à former des hyphes qui ressemblent d'abord aux hyphes végétatives qui les entourent. C'est le stade initial de la désagrégation de ces articles. Mais il ne faut pas croire qu'il s'agit ici d'une dégénérescence de cette formation.

Dans la figure 2, pl. XVIII, on voit comment se présente à peu près la structure du périthèce à ce moment. Il est

difficile de concevoir comment les asques peuvent se former à l'intérieur du périthèce ainsi constitué si l'on tient compte de l'aspect qu'il présente quand il est mûr. Pour cela il faut qu'il se produise un remaniement profond de sa



Fig. 18. — *Xylaria polymorpha*. Structure transitoire des tissus provenant de l'*Hyphe de Woronin*.

structure permettant aux futurs asques de se développer. C'est ce qui s'accomplit effectivement.

La figure 18 pag. 113 représente un stade de cette transformation. Les hyphes végétatives qui remplissaient jusqu'alors la cavité centrale du périthèce ont disparu. On trouve au milieu un tissu amorphe composé de cellules qui ne sont pas bien définies en ce sens que leurs membranes ne sont pas précises. Il n'y a pas de limites bien

nettes, tout est flou, et on a l'impression qu'à ce moment là, il s'opère un grand remaniement des éléments ascogènes provenant de l'ascogone. Par contre les noyaux sont très nets, ce qui nous indique qu'il n'y a pas dégénérescence, mais simplement transformation. Cet état mal défini ne tarde pas à trouver son équilibre dans une structure nouvelle qui est tout à fait différente de celle qui la précédait.

En réalité, on remarque un peu plus tard la formation de grandes cellules à partir de la base du périthèce. Ces grandes cellules possèdent plusieurs noyaux. Elles forment un tissu avec les cellules qui proviennent de *l'Hyphe de Woronin.* Nous insistons particulièrement sur l'origine double de ce tissu, parce que les hyphes ascogènes proprement dites vont précisément naître dans ce tissu.

Nous avons déjà indiqué qu'on a prétendu à plusieurs reprises dans les anciens travaux, que les asques proviendraient des cellules végétatives. Cette assertion a pu naître à la suite de la difficulté qu'il y a à suivre pas à pas toutes les phases du développement de l'ascogone et à révéler les structures différentes qui se succèdent. Nous croyons avoir assez insisté sur ce point pour qu'on puisse se rendre compte que le tissu cellulaire qui remplit à ce moment la cavité centrale du périthèce n'est pas d'origine purement végétative.

A un moment donné, on trouve parmi ces cellules l'origine même des hyphes ascogènes. Ce sont de petites cellules très colorées à noyaux bien visibles. Elles naissent isolées ou réunies en petits bouquets comme on peut le voir dans les préparations obtenues par des coupes perpendiculaires à la base du périthèce (Pl. XIX). Dans ces préparations, comme dans celles qui proviennent de coupes parallèles à la base du périthèce (Pl. XX, fig. 1), on remarque de temps en temps des crochets quoique dans le premier cas on les voie plus fréquemment que dans le second.

La région où les hyphes ascogènes commencent à se former est composée de cellules un peu plus petites que celles qui se trouvent au-dessus ou au-dessous de cette région.

On constate bientôt que la partie inférieure de ce tissu composé de grandes cellules comme la partie supérieure commence aussi à se désorganiser. Par contre, les hyphes ascogènes se ramifient et donnent naissance aux asques. A la suite de cette désorganisation progressive, l'assise génératrice des hyphes ascogènes descend vers les parois du périthèce. On trouve dans la région basale du périthèce les ramifications des hyphes ascogènes qui ont donné naissance aux asques qui, en ce moment là, sont en voie de former les ascospores (Pl. XX, fig. 2). A la suite de la fusion dangeardienne dans les jeunes asques, se forme le noyau double, qui après trois bipartitions successives donne huit noyaux autour desquels les ascospores s'organisent à la façon décrite par Harper. Les ascospores mûres possèdent un sillon germinatif comme dans toutes les espèces du genre *Xylaria*. Quant aux asques, ils semblent en ce moment être attachés directement aux parois du périthèce.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

Dans la deuxième partie de ce travail nous avons exposé le développement des quatre espèces différentes qui appartiennent à la classe des Ascomycètes. Ce sont : *Ceratostomella piceae*, *Cordyceps militaris*, *Nummularia Bulliardi* et *Xylaria polymorpha*. Nous ne voulons pas énumérer ici tous les résultats que nous avons obtenus au cours de nos recherches, mais nous allons montrer quelles sont les idées générales qu'on peut dégager de ce travail.

D'abord, l'étude de ces espèces nous a montré que les idées formulées par P.-A. Dangeard à propos des Ascomycètes à périthèces simples sont également applicables aux Ascomycètes à périthèces composées.

Nous savons ensuite que la question du développement des Ascomycètes est intimement liée aux problèmes de la sexualité et de la filiation de ces organismes. C'est précisément pour cela que nous avons mis en tête de notre travail *Ascoidea rubescens*. Cette espèce est particulièrement apte à nous suggérer des idées d'ordre général sur la filiation et la sexualité des Ascomycètes. Dans l'introduction nous avons déjà dit qu'il n'y a qu'un pas de la filiation à une classification naturelle. A la suite des considérations phylogénétiques à propos de *Dipodascus albidus* et *Ascoidea rubescens* exposées dans la première partie, nous avons défini les *Hemiasci* d'une manière tout à fait nouvelle. Aussi nous avons montré que le sac sporifére de ces Champignons est un hémiasque c'est-à-dire un asque qui est encore originairement polyénergide. Cet organe reproducteur est bien défini au même titre que l'asque et la ba-

side. C'est ainsi que nous croyons avoir contribué d'une manière efficace à la classification naturelle des Ascomycètes.

A notre avis une étude sur n'importe quelle espèce d'Ascomycètes est la bienvenue ; elle avancera nos connaissances sur les relations qui existent entre ces Champignons. De cette manière nos idées vont devenir à cet égard beaucoup plus précises qu'elles ne le sont maintenant. Pour le moment, nous sommes encore obligé de nous servir copieusement des interpolations théoriques, faute d'observations positives suffisantes. Et il en sera ainsi jusqu'au moment où nous serons assez avancés dans l'étude du développement des Ascomycètes. Pourtant une chose paraît acquise dès maintenant : la formation libre des ascospores est le signe de parenté qui atteste l'origine commune de toutes les Ascomycètes. Ce mode de formation des ascospores est un legs des *Hemiasci* aux Ascomycètes. Il ne faut pas s'inquiéter de ne pas toujours trouver toutes les transitions désirables . Les faits acquis jusqu'à présent peuvent être opposés avec succès à tous les arguments des partisans d'une origine polyphylétique des Ascomycètes.

Nous allons maintenant aborder la question de la sexualité chez les Ascomycètes. D'abord nous constatons que la fin du XIXe siècle et le commencement du XXe siècle ont marqué une époque dans l'investigation de la sexualité de ces Champignons. Cela coïncide avec la généralisation de l'emploi des méthodes histologiques en mycologie. Depuis lors, on a fait beaucoup de recherches et exprimé pas mal d'opinions. Mais si l'on y regarde de près on constate qu'on peut ramener toutes ces opinions aux trois hypothèses principales, établies par Harper, P.-A. Dangeard et Claussen. Il est nécessaire ici d'entrer dans quelques détails, parce que si nous avons été amené à la suite de nos recherches à prendre résolument position en faveur de la théorie de P.-A. Dangeard, on peut nous opposer autant de travaux qui semblent donner raison à Harper ou à Claussen.

Pour montrer les différences principales entre ces théories, nous allons exposer le cas de *Pyronema confluens*, qui nous paraît un exemple de choix pour un examen théorique de ce genre. Ce Champignon, comme aussi les espèces voisines ont été étudiés à maintes reprises par de nombreux auteurs. (De Bary, Brown, Claussen, P.-A. Dangeard, Harper, Kihlmann, M. et Mme F. Moreau, Robinson, Tandy, Van Tieghem, Tulasne). Nous exposerons ici seulement les résultats obtenus par Harper, Dangeard, et Claussen parce que les résultats fournis par ces auteurs sont à l'origine des hypothèses les plus connues sur la sexualité des Ascomycètes. Les résultats obtenus par Harper et Dangeard sont diamétralement opposés tandis que le résultat obtenu par Claussen apparaît comme un compromis entre ces deux conceptions.

Nous rappelons brièvement qu'au début de la formation des corps fructifères on trouve des rosettes chez *Pyronema*. Ce sont les organes initiaux constitués par des organes qu'on appelle d'ordinaire anthéridies et oogones. Chaque oogone a un trichogyne au moyen duquel il se met en rapport avec l'anthéridie. Harper affirme que le contenu de l'anthéridie pénètre dans l'oogone où a lieu la copulation des noyaux par paires. P.-A. Dangeard, en se basant sur ses propres recherches, affirme qu'il n'y a aucun passage du contenu d'un organe initial à l'autre ; enfin Claussen est convaincu que le contenu de l'anthéridie se déverse dans l'oogone. Les noyaux mâles se mettent en contact avec les noyaux femelles et forment les synkaryons.

Nous n'avons pas à chercher les causes expliquant que ces trois auteurs aient obtenu des résultats si différents. Nous n'avons pas non plus en vue de les concilier. Il nous suffit de constater ces différences parce qu'elles sont très caractéristiques.

D'après M. P.-A. Dangeard, chez les Eumycètes l'acte sexuel est représenté par la caryogamie et c'est ce qu'on

nomme fusion « dangeardienne ». P.-A. Dangeard a trouvé cette fusion dans tous les jeunes asques et dans les basides. Les recherches ultérieures ont confirmé ces observations à l'exception des cas où les asques et les basides sont parthénogénétiques. Ce phénomène s'explique d'ailleurs fort bien par la propre théorie sexuelle de ce savant. Les organes initiaux interprétés comme oogones et anthéridies sont considérés par P.-A. Dangeard comme les vestiges d'une ancienne sexualité. Ces organes d'après lui ont perdu leur fonction.

Par contre, Harper dans une série de travaux sur les différents Ascomycètes s'efforce de démontrer l'existence d'une caryogamie au commencement de la formation des corps fructifères. Les organes initiaux considérés par Dangeard comme les vestiges d'une ancienne sexualité sont pour lui de véritables anthéridies et oogones, donc des organes en pleine fonction. Lui aussi a observé la fusion des noyaux dans l'asque, mais il donne à ce phénomène une autre interprétation, Il considère cette deuxième fusion comme un phénomène purement végétatif moyennant lequel l'équilibre se maintient entre le noyau et le plasma. Voilà une curieuse application du rapport nucléoplasmatique de R. Hertwig. A la suite de ces doubles fusions le noyau unique de l'asque contient 4n chromosomes. Si le fait existait réellement, il serait unique en sexualité générale. A propos de cette manière de voir on peut formuler de nombreuses objections, mais nous nous contenterons de dire que ces conceptions perdent chaque jour du terrain. Il est équitable de dire que l'opinion de Harper a été partagée par certain nombre d'auteurs. Les détails et les informations plus complète à ce sujet se trouvent exposés dans un livre récent : *The Structure et Developpment of the Fungi* by H. C. J. Gwynne-Vaughan and B. Barnes. Cambridge 1927 (**77**).

Quant à la théorie de Claussen, elle paraît être en vogue en ce moment. En France même, cette théorie a des adeptes

fervents. Il nous suffit de citer le nom d'un savant mycologue, M. Ch. Killian. Nous allons nous occuper ici de cette théorie parcequ'on lui attribue très souvent une importance qu'elle ne possède pas en réalité.

La théorie de Claussen a son origine dans les travaux sur *Pyronema confluens*. Est-ce une technique insuffisante qui a fait d'abord de Claussen un chaud partisan de la théorie d'Harper ou est-ce seulement l'influence d'idées préconçues ? Nous ne le savons pas. Quoi qu'il en soit Claussen a changé d'opinion depuis ce temps et c'est ainsi qu'a pris naissance sa théorie telle que nous la connaissons aujourd'hui. On peut la résumer brièvement ainsi. L'acte sexuel chez les Ascomycètes supérieurs est représenté par le mélange complet des contenus des deux cellules à la suite d'une copulation. Cette copulation se trouve située au niveau des organes initiaux des périthèce. A la suite de ce phénomène ils se forment plus tard les synkaryons c'est-à-dire les rapprochements par paires de noyaux mâles et de noyaux femelles qui vont se fusionner dans les asques. C'est la fécondation. Autrement dit, nous avons ici une plasmogamie et une caryogamie.

Voilà comment M. P.-A. Dangeard a apprécié la question de la plasmogamie (**35**, pag. 309) : « ...en admettant l'hypothèse d'une fécondation protoplasmique nous sommes dans l'impossibilité d'en fixer la place : *il serait en tout cas plus vraisemblable de la situer au moment de l'union des noyaux que de la placer avant les divisions nucléaires qui ont précédé la fécondation.*

En reportant ces données aux Ascomycètes, on voit que ni la perforation, ni le passage de protoplasma et de noyaux d'un organe dans l'autre, ne permettent de séparer la fécondation protoplasmique de la fécondation nucléaire : *si on admet par simple hypothèse une fécondation protoplasmique, il est plus vraisemblable de la placer dans les diplogamètes au niveau de la fécondation nucléaire que de la situer au niveau des fusions cellulaires* ».

Malgré cela, Killian considère que la théorie de Claussen dispute la place à la théorie de Dangeard. Voilà la quintessence de ce que Killian a trouvé opposer, à propos des Ascomycètes, à M. P.-A. Dangeard (**94**, pag. 226-227) : « Nous opposons aux thèses de M. Dangeard la preuve évidente que chez un nombre d'*Ascomycètes* supérieurs les organes sexuels peuvent fonctionner ; la formation de la génération binucléée retardant la fusion des noyaux, aurait comme but d'augmenter l'effet de la fécondation ».

Mais cette objection n'a pas la portée supposée par Killian. Evidemment suggestionné par la théorie de Claussen, admettant une disjonction des phénomènes sexuels en plasmogamie et caryogamie, Killian a fait fausse route dans l'interprétation de la sexualité chez les Ascomycètes, qui consiste en réalité dans la caryogamie c'est-à-dire dans la fusion de deux gamètes réduits à l'état d'énergides sexuelles. Il proclame (**94**, pag. 190) : « ...le *Dipodascus* et l'*Endomyces Magnusii* ont un intérêt tout particulier... » étant donné qu' « ...une première différenciation du sexe s'établit entre eux, telle qu'elle se trouve régulièrement chez les *Ascomycètes* supérieurs ». Il faut préciser les choses. La question doit être posée ainsi : Faut-il voir dans le mélange du contenu de deux cellules, même là où il existe sans aucun doute, une fécondation par plasma ou non et ce mélange du contenu de deux cellules est-il nécessaire pour la fécondation ? Pour répondre à ces questions il faut remonter à l'origine de la sexualité. P.-A. Dangeard a montré : « Que la sexualité s'est établie chez les êtres vivants de la manière suivante. L'espèce se multipliait par des sporanges, c'est-à-dire par des sacs, à l'intérieur desquels le protoplasme se fragmente en un nombre variable de corpuscules reproducteurs ; ceux-ci, désignés sous le nom de zoospores, sont le point de départ de nouveaux individus. A un moment donné de l'évolution, il est arrivé qu'après un certain nombre de sporulations, les zoospores n'avaient plus

l'énergie suffisante pour développer un nouvel individu ; il leur a fallu s'unir par deux en fusionnant leurs noyaux pour retrouver l'énergie nécessaire à la continuation du développement.

A partir de ce moment, on pouvait distinguer des zoospores et des gamètes, des sporanges et des gamétanges (fig. 1 = 19 de notre texte page. 123) ; le gamétange

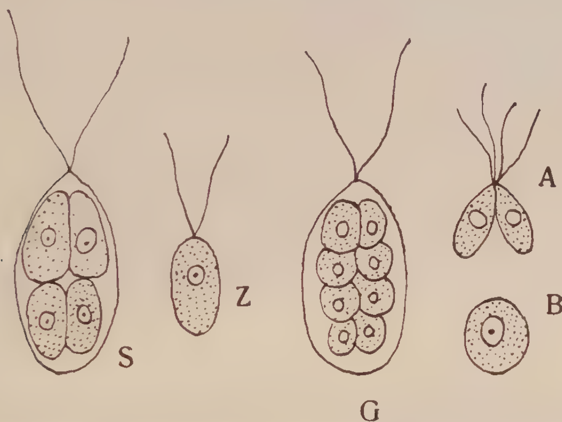


Fig. 19.— Sporanges S. Gamétanges G. Zoospores Z. Copulation des gamètes A B dans une Chlamydomonadinée (d'après P.-A. Dangeard).

n'était autre chose qu'un sporange à zoospores affaiblies.

Chez les Siphomycètes, la reproduction sexuelle n'échappe pas à ce schéma ; il y a des sporanges et des gamétanges ; mais les gamètes qui chez les Chlamydomonadinées effectuent normalement leur copulation en dehors des gamétanges, sont immobiles chez la plupart des Champignons inférieurs ; ils restent dans les gamétanges, et leur union ne peut s'opérer qu'au moyen d'une anastomose qui fait communiquer les gamétanges ; l'*anastomose, en elle-même, n'a aucun caractère sexuel* » (**32**, pag. 150).

Constatons d'abord que les gamètes individualisés sont en réalité les cellules complètes. Pendant la fécondation il n'y a pas de fusion des noyaux sans mélange du plasma. On peut parler dans ce cas d'une caryogamie et d'une

plasmogamie, ces phénomènes coïncidant dans le mélange intime du contenu de deux cellules. Mais dès que les gamètes restent dans les gamétanges où ils sont réduits à l'état d'énergides sexuelles, il existe deux possibilités :

1. Les gamétanges doivent entrer en communication et mélanger leur contenu pour mettre en présence les gamètes qui vont se fusionner.
2. La mise en présence des gamètes est assurée d'une autre manière.

La communication entre les gamétanges est une acquisition secondaire, comme nous venons de voir, mais qui peut manquer dans le second cas.

Par conséquent le mélange du contenu de deux cellules n'est pas indispensable à la fécondation qui existe en réalité dans l'union des énergides et non plus dans l'union des cellules parce que les gamètes sont réduits à l'état d'énergides sexuelles.

Ces deux phénomènes peuvent encore coïncider dans certain cas l'un avec l'autre, mais il ne faut pas les confondre.

En ce qui concerne les *Hemiasci* et les Ascomycètes, nous dirons tout de suite que nous croyons bien que la mise en contact de deux gamétanges peut être un fait de la plus haute importance pour une espèce déterminée. Malgré cela il ne faut pas attribuer à ce phénomène une importance exagérée. Prenons l'*Endomyces Magnusii* de tout à l'heure. Il y a deux modes de formation de l'asque chez ce Champignon. Ou bien l'asque se forme à la suite d'une fusion des gamétanges, ou les asques sont parthénogénétiques. Nous trouvons le même état de choses un peu partout chez les Endomycétées. Voyons ce qui se passe quand les asques de ce Champignon se forment à la suite d'une copulation. Pour celui qui n'a pas d'idées préconçues il est clair qu'il s'agit ici de deux phénomènes différents qui coïncident l'un avec l'autre. Ce sont :

1. La fusion des rameaux copulateurs au moyen de

laquelle s'effectue la mise en présence des énergides sexuelles.

2. La fusion de ces deux énergides dont la manifestation visible est la fusion des noyaux.

C'est la coïncidence de ces deux phénomènes qui n'a pas permis de saisir clairement l'importance de la caryogamie. C'est pour cela qu'il nous semble que le choix des Endomycétées est mauvais pour résoudre cette question de même que celui des Ascomycètes supérieurs parce que chez ces Champignons il y a déjà une complication secondaire à la suite de l'apparition des hyphes ascogènes. Il faut remonter à l'origine même des Ascomycètes pour en étudier les manifestations sexuelles.

Nous pouvons dire aujourd'hui que contrairement à ce que pense Killian, *Dipodascus albidus* n'est pas une variation polynucléée d'*Endomyces.* Il n'y a pas lieu d'admettre qu'il s'agit chez *Dipodascus* d'une modification secondaire. Son asque ne se distingue pas essentiellement de celui des autres Ascomycètes par le grand nombre des spores qu'il contient. On n'a pas compris que le caractère essentiel de *Dipodascus* consiste dans le fait qu'il possède les hémiasques, c'est-à-dire les asques qui sont originairement polyénergides.

Dans la première partie de notre travail nous avons trouvé que les *Hemiasci* sont le ancêtres des Ascomycètes. Ce groupe est composé de deux genres : *Dipodascus* et *Ascoidea.* Chez le *Dipodascus* il y a une fusion entre les gamétanges qui est suivie de près par la fusion de deux gamètes privilégiés. Tout le monde a été d'accord pour admettre qu'il s'agissait ici d'un acte sexuel. Comment faut-il interpréter le phénomène sexuel chez ce Champignon ? Nous aurons une réponse satisfaisante en comparant la reproduction sexuelle de *Dipodascus* avec celle de *Ascoidea.*

Nous avons montré que la reproduction sexuelle chez *Ascoidea* est la même que chez *Dipodascus*, la seule diffé-

rence résidant dans l'union des gamètes réunis sous une même membrane dès le début. Par conséquent il n'y a pas de mélange entre les plasmas et les noyaux qui proviennent de deux cellules différentes. Si l'on ne veut pas accorder à la fusion des noyaux dans l'hémiasque de l'*Ascoidea* la valeur d'une fécondation, cela revient à nier une vérité évidente. On voit nettement ici que l'acte sexuel

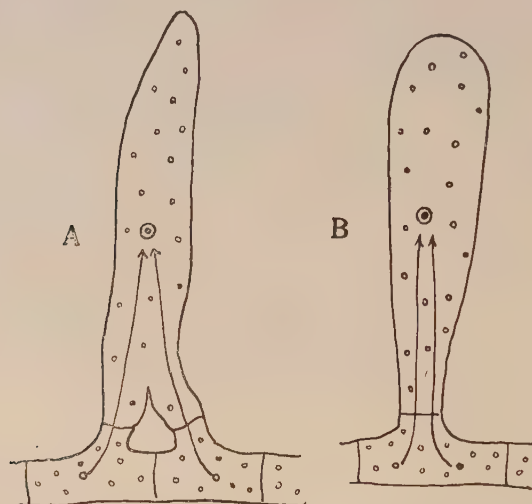


Fig. 20. — Origine des noyaux qui se fusionnent dans le sac sporifère de *Dipodascus albidus* (A) et d'*Ascoidea rubescens* (B).

est réduit à son essence même, c'est-à-dire à la fusion de deux gamètes qui sont réduits à l'état d'énergides sexuelles dont la manifestation visible consiste dans la fusion des noyaux, et s'il y a une plasmogamie, elle doit logiquement se produire à ce moment.

Nous répétons encore une fois que le mélange du contenu des deux cellules peut être un phénomène très important pour une espèce déterminée. Il met en présence les noyaux qui vont se fusionner (*Dipodascus* fig. 20, A; pag. 126). Mais cette mise en présence de deux noyaux peut être réalisée d'une autre manière. Pour cela il n'est

pas nécessaire qu'il y ait mélange du contenu de deux cellules (*Ascoidea*, fig. 20, B). C'est pour cela que nous ne pouvons pas accorder à ce phénomène une signification prépondérante. Au point de vue général il ne signifie pas grand chose puisqu'il peut manquer. Nous mentionnons encore les recherches récentes sur la prétendue plasgomanie chez les Exoascinées. Wieben a trouvé dans les cultures *in vitro* que les conidies produites par bourgeonnement peuvent se fusionner deux à deux. On a voulu voir dans cette fusion un acte sexuel. Le cas où se fusionnent plus de deux conidies (ce qui n'est pas rare), doit être étudié avec grand soin. On sait aussi qu'une ascospore seule est capable de fournir le mycélium binucléaire (P. Eftimiu, E. M. Martin). Cela nous indique qu'il n'est pas nécessiare d'attribuer une signification excessive à cette fusion. Nous ne pouvons que répéter ici ce que nous avons déjà dit à propos des *Hemiasci*. Au point de vue général cette fusion n'est pas un acte essentiel. La meilleure preuve en est qu'elle peut manquer et que cela n'altère nullement la reproduction sexuelle de ces Champignons. Il ne faut pas se laisser égarer par les détails d'ordre secondaire. Ainsi nous considérons comme tel ce phénomène qu'on appelle d'habitude plasmogamie chez Ascomycètes, ces Champignons pouvant très bien se passer de cet acte. Par contre la fusion dangeardienne est constante à rares exceptions près où elle est remplacée par la parthénogénèse, ce qui s'explique facilement par la même théorie.

Qu'on veuille bien tenir compte que ces idées se dégagent de l'étude des *Hemiasci*, donc de celles d'un groupe qui se trouve à la base de l'échelle phylogénétique des Ascomycètes et quand on tente d'expliquer les phénomènes sexuels chez ces Champignons il nous semble inutile de chercher des analogies équivoques parmi les animaux (Cyclops).

Nous pouvons tirer maintenant la conclusion suivante : L'étude du développement de l'*Ascoidea rubescens* et la comparaison avec *Dipodascus albidus* nous ont permis de

vérifier un des points principaux de la théorie émise par M. P.-A. Dangeard sur la sexualité des Ascomycètes, c'est-à-dire qu'il ne faut pas attribuer une importance exagérée au mélange du contenu des deux cellules. Ce qui importe c'est l'union des gamètes qui sont ici réduits à l'état d'énergides sexuelles et dont l'expression visible est la fusion des noyaux. Nous assistons ainsi à l'écroulement complet de l'hypothèse qui attribua au mélange du contenu de deux cellules la signification d'une plasmogamie, même si ce mélange existe en réalité comme c'est le cas chez *Dipodascus*.

Nous ne voulons pas alourdir outre mesure ces considérations théoriques mais il nous semble nécessaire d'attirer encore l'attention sur deux faits très significatifs, pour montrer que notre adhésion aux idées professées par M. P.-A. Dangeard est une nécessité logique, qui se dégage de nos propres recherches.

Ce savant a d'abord combattu l'hypothèse d'une dérivation phylogénétique des Ascomycètes à partir des Floridées. Pour lui les Phycomycètes sont les ancêtres des Ascomycètes. Quant à l'asque c'est un œuf qui germe immédiatement en sporogone. Nous constatons que ces hypothèses sont les seules qui peuvent servir de base solide pour une explication rationelle des hémiasques. Cela explique le fait que nous n'avons rien eu à renverser en donnant une nouvelle définition d'*Hemiasci* parce que nous considérons nous aussi le *Dipodascus* comme le prototype des Ascomycètes.

Ensuite, quand il explique l'évolution de la sexualité chez Ascomycètes il se sert de l'hypothèse que l'œuf peut se former aux dépens des gamètes d'un seul gamétange comme c'est le cas chez certaines algues. Il se sert de cette hypothèse pour nous en faire accepter une autre relative à la formation de l'œuf aux dépens des gamètes d'un même gamétophore. Mais laissons la parole à l'auteur lui-même (**32**, pag. 152-154) :

« D'un côté, nous voyons le sporange transformé en conidiophore ; l'*ensemble des spores d'un conidiophore correspond aux spores d'un sporange.*

Mais le gamétange, nous le savons, est l'équivalent d'un sporange, rien d'étonnant à ce qu'il ait subi une différenciation analogue et se soit développé en un gamétophore ; l'*ensemble des gamètes du gamétophore correspond aux gamètes d'un sporange, c'est entre eux que doit s'effectuer la fécondation.*

Si les deux gamétanges en présence s'étaient différenciés *chacun en un gamétophore, avec gamètes s'unissant de l'un à l'autre, il n'y aurait pas eu la moindre difficulté dans l'interprétation* ; *la difficulté* n'existe que parce que l'un des *deux gamétophores seul s'est développé et que l'union des gamètes a lieu sur le même gamétophore.*

L'objection tombe pourtant d'elle-même, lorsqu'on entre plus avant dans l'examen des faits.

Pour qu'il y ait formation d'un œuf, il n'est nullement nécessaire que les gamètes appartiennent à des gamétanges différents ; on connaît de nombreux exemples où la copulation s'effectue entre gamètes d'un même gamétange (*Ulotrix*, *Chlamydomonas*, *etc.*).

On est donc absolument autorisé à affirmer que l'œuf *peut également se former aux dépens des gamètes d'un même gamétophore.*

Prenons le *Dipodascus* de tout à l'heure : les noyaux de chaque gamétange proviennent fréquemment d'un même article : il est naturel de supposer que les deux noyaux copulateurs sont passés par un gamétange différent ; mais en quoi la sexualité serait-elle troublée, si par hasard ou autrement ces deux noyaux avaient suivi la même direction ? *Le second gamétange n'aurait plus de rôle sexuel à remplir* ; *tout se bornerait à une question de nutrition, cet organe devenu inutile pourrait même disparaître sans inconvénient* ; *c'est ce qui est arrivé chez la plupart des Ascomycètes.* »

Nous sommes d'accord avec ces explications, parce que l'étude de *Ascoïdea rubescens* nous a donné la preuve que chez les *Hemiasci*, l'œuf peut se former aussi aux dépens des gamètes d'un même gamétange. Alors les faits fournis par les recherches nouvelles s'harmonisent bien avec la théorie : ils sont pour ainsi dire prévus par elle. On voit alors pourquoi nous avons pris les idées de P.-A. Dangeard comme base de nos considérations théoriques. On apportera peut-être encore des détails nouveaux à ces idées, comme nous l'avons fait, mais le cadre général de l'évolution de la sexualité chez les Champignons restera malgré cela intact. On comprend alors pourquoi les noyaux se fusionnent dans les asques et non pas ailleurs et que la fusion dangeardienne correspond à la fécondation qui est l'essence même de la reproduction sexuelle. Voilà encore une corroboration significative de sa théorie.

Pour terminer nous dirons qu'on a pu s'apercevoir que l'étude de l'*Ascoidea* nous a fourni les meilleures raisons de nous rallier aux idées de M. P.-A. Dangeard. Une confirmation de sa théorie nous est venue d'un côté que lui-même n'a pas soupçonné jadis. Pour corroborer cette affirmation il nous suffit d'emprunter quelques passages à son mémoire intitulé : « Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes » (**32**). On trouve à la page 132-133 ce qui suit : « Un point restait obscur aussi bien pour nous que pour nos adversaires : certains genres réunis fréquemment sous le nom d'*Hemiasci*, comme les *Taphridium*, les *Ascoidea*, les *Protomyces*, sont dépourvus de périthèce : on ne peut leur attribuer ni archicarpes ni anthéridies ; mais on ne trouve pas davantage de fusion nucléaire à l'origine de l'asque. La difficulté a été résolue par l'étude du nouveau genre *Protascus*, un des nombreux parasites de l'Anguillule ; l'asque, dans les *Hemiasci*, dérive du sporange asexuel ». Et à la page 256 on peut lire : « Nous avons précisément découvert un genre nouveau qui présente ces caractères de transition très marqués, dont

tous les caractères sont encore ceux d'une Chytridiacée et qui cependant est un *Hemiasci*, par ses spores immobiles ; il se place naturellement à la base de cette section, qui comprendra ainsi les genres *Protascus*, *Protomyces*, *Taphridium*, *Ascoidea* ; d'autres genres viendront sans doute se joindre à ceux-ci plus tard et permettre de se faire une idée plus exacte et plus complète de l'évolution du thalle dans cette section ; mais nous n'en connaissons pas d'autres pour l'instant, les Thélébolées ayant fait retour aux Ascomycètes ».

Ajoutons que nos résultats sur l'*Ascoidea* permettent d'envisager sous un jour nouveau et différent la famille des *Hemiasci*.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. Ashby (S. F.) and Nowell (W.).— The Fungi of Stigmatomycosis (*Annals of Botany*, vol. XL, p. 69, 1926).
2. Atkinson (G. F.). — Phylogeny and Relationships in the Ascomycetes (*Annals of the Missouri Botanical Garden*, vol. II, p. 315, 1915).
3. — The genus Endogone (*Mem. Brooklyn. Bot. Garden*, vol. I, p. 1, 1918).
4. Bary (A. de). — Ueber die Fruchtentwickelung der Ascomyceten. Leipzig, 1863.
5. — Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig, 1866.
6. — Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze Mycetozoen und Bacterien. Leipzig, 1884.
7. Bensaude (M.). — Recherches sur le Cycle évolutif et la Sexualité chez les Basidiomycètes (Thèse, Paris. Nemours, 1918).
8. Blackman (V. H.). and Fraser (H. C. J.). — On the Sexuality and Development of the Ascocarp in Humaria granulata, Quel. (*Proceed. Royal Society*. London, vol. LXXVII, p. 354, 1906).
9. Brefeld (O.). — Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie (*Botanische Untersuchungen über...*, vol. 1-15, 1872-1912).
10. Brown (H. B.). — Studies of the Development of Xylaria (*Annales Mycologici*, vol. XI, p. 1, 1913).
11. Brown (W. H.). — Nuclear Phenomena in Pyronema confluens (*Johns Hopkins Univ. Circular*, 1909).
12. — The Development of Pyronema confluens var. inigneum (*Amer. Journ. of Bot.*, vol. II, p. 289, 1915).
13. Bucholtz (F.). — Über die Befruchtung von Endogone lactiflua Berk. (*Annales Mycologici*, vol. 9, p. 329, 1911).
14. — Beiträge zur Kenntnis der Gattung Endogone Link. (*Beihefte zum Botan. Centralblatt*, Bd. 29, 11 Abt, p. 147, 1912).
15. Büren (G.). — Die schweizerichen Protomycetaceen mit besonderer Berücksichtigung ihrer Entwicklungsgeschichte und Biologie (*Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweitz*, Bd. V, Heft I, 1915).
16. Cayley (D. M.). — Sex in Fungi (*Nature*, vol. 125, n° 3153, 1930).
17. Chamberlain (Ch. J.). — Methods in plants Histology (Chicago, 1928).

18. Claussen (P.). — Zur Entwickelungsgeschichte der Ascomyceten. Boudiera (*Botanische Zeitung, Jahrg.* 1905, Heft : I, II ; tiré à part).
19. — Über neuere Arbeiten zur Entwickelungsgeschichte der Ascomyceten (*Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Generalversammlungsheft*, Bd. 24, p. 586, 1906).
20. — Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Pyronema confluens (*Zeitschrift für Botanik*, Bd. IV, p. 1, 1912).
21. — Fortpflanzung im Pflanzenreiche (*Die Kultur der Gegenwart*, Teil III, Abt IV, 1, p. 479, 1915).
22. — Cooke (M. C.). — Vegetables Wasps and Plant Worms. London, 1892.
23. Dale (E.). — On the Morphology and Cytology of Aspergillus repens de Bary (*Annales Mycologici*, vol. VII, p. 215, 1909).
24. Dangeard (P.-A.). — La reproduction sexuelle des Ascomycètes (*Le Botaniste*, série IV, p. 21, 1894).
25. — La reproduction sexuelle dans le Sphaerotheca castagnei (*Le Botaniste*, série V, p. 27, 1896-1897).
26. — Second mémoire sur la reproduction sexuelle des Ascomycètes (*Le Botaniste*, série V, p. 245, 1896-1897).
27. — L'influence du mode de nutrition dans l'évolution de la plante (*Le Botaniste*, série VI, p. 1, 1899).
28. — Mémoire sur les Chlamydomonadinées ou l'histoire d'une cellule (*Le Botaniste*, série VI, p. 65, 1899).
29. — La reproduction sexuelle des champignons. — Etude critique (*Le Botaniste*, série VII, p. 89, 1900).
30. — Programme d'un essai sur la reproduction sexuelle (*Le Botaniste*, série VII, p. 263, 1900).
31. — Nutrition ordinaire, nutrition sexuelle et nutrition holophytique (*Le Botaniste*, série VIII, p. 59, 1901).
32. — Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes (*Le Botaniste*, série IX, p. 57, 1903).
33. — L'évolution de la Sexualité générale (*La Revue des Idées* nº 37, 1907. Tiré à part).
34. — Recherches sur le développement du périthèce chez les Ascomycètes. Deuxième partie (*Le Botaniste*, série X, p. 1, 1907).
35. — La reproduction sexuelle envisagée dans sa nature, dans son origine et dans ses conséquences (*Le Botaniste*, série XIII, p. 285, 1913-1914).
36. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 169, p. 1005, 1919)
37. — Plastidome, Vacuome et Sphérome dans Selaginella Kraussiana (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. Paris, t. 170, p. 301, 1920).
38. — La structure de la cellule végétale dans ses rapports avec la

théorie du chondriome (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. Paris, t. 173, p. 120, 1921).

39. — Sur la nature du sphérome dans la cellule végétale (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 173, p. 1038, 1921).

40. — Sur la reproduction sexuelle chez le Marchantia polymorpha dans ses rapports avec la structure cellulaire (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 178, p. 267, 1924).

41. — La nouvelle terminologie des éléments cellulaires (Recherches sur les Tubercules radicaux des Légumineuses). (*Le Botaniste*, série XVI, p. 16, 1926).

42. DANGEARD (P.-A.) et KIN (Chou-Tsang). — Recherches sur les formations cellulaires contenues dans le cytoplasme des Péronosporées (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 182, p. 1256, 1926).

43. DEANGEARD (P.). — Recherche sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux (*Le Botaniste* série XV, p. 1, 1923).

44. DAVIS (B.-M.). — The relationships of sexual organs in plants (*Botanical Gazette*, vol. XXXVIII, p. 241, 1904).

45. DODGE (B.-O.). — The morphological relationships of the Florideae and the Ascomycetes (*Bulletin of the Torrey Botanical Club*, vol. XLI, p. 157, 1914).

46. DOP (P.) et GAUTIÉ (A.). — Manuel de technique botanique. Paris, 1928.

47. EFTIMIU (P.). — Contribution à l'étude cytologique des Exoascées (*Le Botaniste*, série XVIII, p. 1, 1927).

48. ELLIOTT (J. A.). — A cytological study of Ceratostomella fimbriata (E. et H.) Elliott (*Phytopathology*, vol. XV, p. 417, 1925).

49. ENGLER (A.) und PRANTL (K.). — Die natürlichen Pflanzenfamilien. Teil I, Abteilung I, 1897).

50. ERRERA (L.). — L'épiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux (Thèse. Bruxelles, 1882).

51. FAULL (J. H.). — Development of the Ascus and Spore Formation in Ascomycetes (*Proceed. Boston Soc. Nat. Hist.*, vol. XXXII, p. 77, 1905).

52. — The Cytology of the Laboulbeniales (*Annals of Botany*, vol. XXV, p. 649, 1911).

53. — The Cytology of Laboulbenia chaetophora and L. Gyrinidarum (*Annals of Botany*, vol. XXVI, p. 325, 1912).

54. FISCH (C.). — Beiträge zur Entwickelungsgeschichte einiger Ascomyceten (*Botanische Zeitung*, vol. XL, p. 850, 875, 899, 1882).

55. FISCHER (Ed.). — Pilze (*Handwörterbuch der Naturwissenschaften*, Bd. VII, p. 880, 1912).

56. — Fortpflanzung der Gewächse (Pilze) (*Handwörterbuch der Naturwissenschaften*, Bd. IV, p. 179, 1913).

57. FITZPATRICK (H. M.). — The Lower Fungi (Phycomycetes). New-York-London, 1930.

58. Fraser (H. C. J.). — On the Sexuality and Development of the Ascocarp in Lachnea stercorea, Pers. (*Annals of Botany*, vol. XXI, p. 349, 1907).

59. — Contributions to the Cytology of Humaria rutilans, Fries. (*Annals of Botany*, vol. XXII, p. 35, 1908).

60. Fraser (H. C. J.) and Brooks (W. E.). — Further studies on the Cytology of the Ascus (*Annals of Botany*, vol. XXIII, p. 537, 1909).

61. Fraser (H. C. J.) and Chambers (H. S.). — The morphology of Aspergillus herbariorum (*Annales Mycologici*, vol. V, p. 419, 1907).

62. Füisting (W.). — Zur Entwickelungsgeschichte der Pyrenomyceten (*Botanische Zeitung* vol. XXV, p. 177, 1867).

63. — Zur Entwickelungsgeschichte der Pyrenomyceten (*Botanische Zeitung*, vol. XXV, p. 305, 1867).

64. Gäumann (E.). — Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena, 1926.

65. Guilliermond (A.). — Contribution à l'étude de la formation des asques et de l'épiplasme des Ascomycètes (*Revue générale de Botanique*, t. XVI, p. 49, 1904).

66. — Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Endomycétées (*Revue générale de Botanique*, t. XXI, p. 353, 1909).

67. — La sexualité chez les Champignons (*Bulletin scientifique de la France et de la Belgique*, t. XLIV, p. 110, 1910).

68. — Les Progrès de la cytologie des Champignons (*Progressus Rei Botanicae*, Bd. IV, p. 389, 1911. Tiré à part).

69. — Les Levûres. Paris, 1912.

70. — Nouvelles observations sur le chondriome de l'asque de Pustularia vesiculosa. Evolution du chondriome pendant les mitoses et la formation des spores (*Comptes rendus de la Société de Biologie*, t. LXXV, p. 646, 1913).

71. — Nouvelles remarques sur la coexistence de deux variétés de mitochondries dans les Végétaux chlorophylliens (*Comptes rendus de la Société de Biologie*, t. LXXXIII, p. 1046, 1920).

72. — Cytologie et sexualité du Sphermophthora gossypii (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 184, p. 1189, 1927).

73. — Quelques faits nouveaux relatifs au développement du Sphermophthora gossypii (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 186, p. 161, 1928).

74. — Remarques sur la phylogénie des Ascomycètes (*Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, Paris, t. 186, p. 512, 1928).

75. — Recherches sur quelques Ascomycètes inférieurs isolés de la stigmatomycose des graines de cotonnier. Essai sur la phylogénie des Ascomycètes (*Revue générale de Botanique*, t. XL, p. 328, 397, 474, 555, 606, 1928).

76. Guilliermond (A.) et Mangenot (G.). — Revue générale des travaux de Cytologie parus de 1910-1915 (*Revue générale de Botanique*, t XXXVIII, p. 202, 252, 329, 723, 1926 et t. XXXIX p. 52, 99, 172, 254, 330, 384, 458, 523, 587, 676, 727, 1927).

77. Gwynne-Vaughan (H. C. I.) and Barnes (B.). — The structure and development of the Fungi. Cambridge 1927.

78. Harper (R. A.). — Beitrag zur Kenntniss der Kerntheilung und Sporenbildung im Ascus (*Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, Bd. XIII, p. 67, 1895).

79. — Die Entwickelung des Peritheciums bei Sphaerotheca Castagnei (*Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* Bd. XIII, p. 475, 1895).

80. — Ueber das Verhalten der Kerne bei der Fruchtentwickelung einiger Ascomyceten (— *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, Bd. XXIX, p. 655, 1896).

81. — Kerntheilung und freie Zellbildung im Ascus (*Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik*, Bd. XXX, p. 249, 1897).

82. — Cell-Division in Sporangia and Asci (*Annals of Botany*, vol. XIII, p. 467, 1899).

83. — Sexual Reproduction in Pyronema confluens and the Morphology of the Ascocarp (*Annals of Botany*, vol. XIV, p. 321, 1900).

84. — Binucleate Cells in Certain Hymenomycetes (*Botanical Gazette*, vol. XXXIII, p. 217, 1902).

85. — Sexual Reproduction and the Organization of the Nucleus in Certain Mildews (*Published by the Carnegie Institution of Washington*, n° 37, 1905).

86. — Nuclear phenomena of sexual reproduction in Fungi (*The American Naturalist*, vol. XLIV, p. 533, 1910).

87. Hedcock (G.G.). — Studies upon some chromogenic Fungi which discolor wood. Saint-Louis, 1906 (Thèse de Washington University).

88. Hilitzer (A.). — Remarques sur le développement et l'organisation des fructifications chez quelques Hypocréales (*Preslia. — Bulletin de la Société botanique tchécoslovaque à Prague*, t. IV, 1926).

89. Holtermann (C.). — Mykologische Untersuchungen aus den Tropen. Berlin, 1898.

90. Juel (H. O.). — Ueber Zellinhalt, Befruchtung und Sporenbildung bei Dipodascus (*Flora*, Bd. XCI, p. 47. — Ergänzungsband zum Jahrgang, 1902).

91. — Taphridium Lagerh. und Juel, eine neue Gattung der Protomycetaceen (*Bihang Svenska Vet. Akad.* Handl., Bd. 27, Afd. III, p. 1, 1902).

92. — Cytologische Pilzstudien. II. Zur Kenntnis einiger Hemiasceen (*Nova Acta Regiae Societatis Scientiarum Upsaliensis*, sér. IV, vol. 5, n° 5, p. 1, 1921.— Tiré à part).

93. Kihlmann (O.). — Zur Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten (*Acta Soc. Scient. Fennicae*, vol. XIV, p. 313, 1885).

94. Killian (Ch.). — La sexualité des Ascomycètes et leurs relations avec

134. Vuillemin (P.). — Les bases actuelles de la systématique en mycologie (*Progressus Rei Botanicae*, Bd. II. Tiré à part, 1907).
135. — Les Champignons. Essai de Classification. Paris, 1912.
136. Wager (H.). — The Sexualiti of the Fungi (*Annals of Botany*, vol. XIII, p. 575, 1899).
137. Wagner (N.). — Evolution du chondriome pendant la formation des grains de pollen chez les Angiospermes (*Biologia generalis*, Bd. III, vol. III, p. 15, 1927).
138. — Sur la formation « de novo » des chondriosomes dans le cytoplasme des cellules-mères des grains de pollen chez les Angiospermes (*Biologia generalis*, vol. III, p. 329, 1927).
139. Ward (H. M.).and Blackman (V. H.). — Fungi (*The Encyclopaedia Britannica*. Eleventh edition, vol. 11, p. 333, 1910-1911).
140. Went (F. A. F. C.). — Le Champignon de l'Ang-Quac, une nouvelle Thélébolée (*Ann. de Sc. nat.* ; *Bot.*, sér. 8, 1, 1895).
141. Wettstein (F.). — Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematisch-phylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich (*Sitzungsberichten der Akademie der Wissenschaften in Wien Mathem, naturw. Klasse, Abteilung*, I, Bd.130, Heft 1-3, 1921).
142. Wettstein (R.). — Handbuch der systematischen Botanik. Leipzig und Wien, 1924.
143. Wieben (M.). — Die Infektion die Mycelüberwinterung und die Kopulation bei Excoasceen (*Forschungen a. d. Geb. d. Pflanzenkrankh. herausgegeben v. Schaffnit.* Jena, vol. III, p. 139, 1927).
144. Zopf (W.). — Die Pilze in morphogischer, physiologischer, biologischer und systematischer Beziehung. Breslau, 1890.

TABLE DES MATIÈRES

DEUXIÈME PARTIE

Ascomycètes (Etude des espèces).

PLANCHES HORS TEXTE

PLANCHE I

Ascoidea rubescens Brefeld.

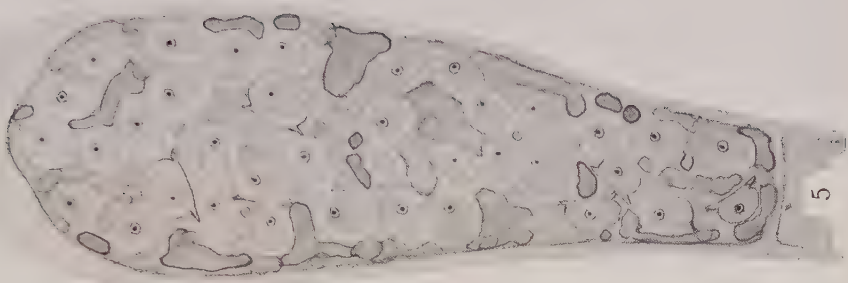
Fig. 1. — Jeune sac sporifère polyénergide.
Fig. 2. — Les deux noyaux privilégiés se mettent en contact et leur volume augmente légèrement.
Fig. 3. — Début de la fusion des noyaux privilégiés.
Fig. 4. — Noyau double provenant de la fusion des noyaux privilégiés.
Fig. 5. — Première mitose du noyau double (Réduction chromatique).
Fig. 6-8. — Différents stades de l'évolution nucléaire montrant les deux séries de noyaux d'origine différente.

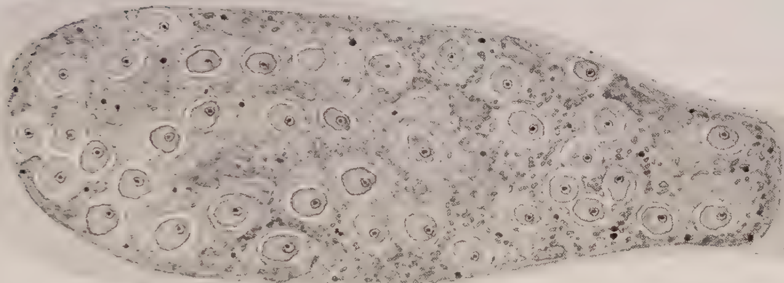

1
2
3
4
5
6
7
8

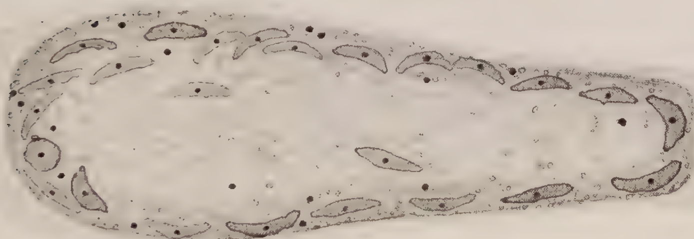
PLANCHE II

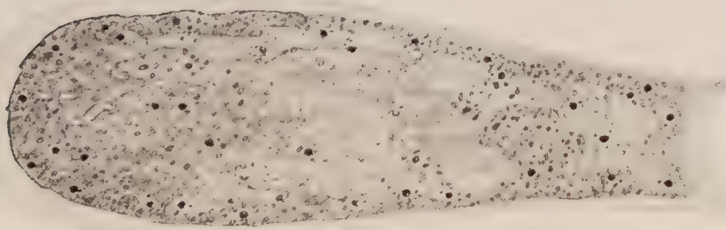
Ascoidea rubescens Brefeld.

Fig. 1. — Division des noyaux dans le sac sporifère.
Fig. 2. — Noyaux après la division. A côté de chaque noyau on remarque un centrosome. On ne distingue plus nettement la différence entre les deux série de noyaux.
Fig. 3. — Début de la formation des spores. Les noyaux inutilisés restent dans l'épiplasme.
Fig. 4. — Stade avancé de la formation des spores.
Fig. 5. — Sac sporifère avec spores mûres entourées d'épiplasme.


5


4


3


2


1

PLANCHE III

Ascoidea rubescens Brefeld.

Fig. 1. — Formation latérale exceptionnelle du sac sporifère.
Fig. 2. — Certains noyaux qui dérivent du noyau double vont dégénérer et disparaître par la suite dans l'épiplasme.
Fig. 3-5. — Déformation tératologique du sac sporifère.


1


2


3


4

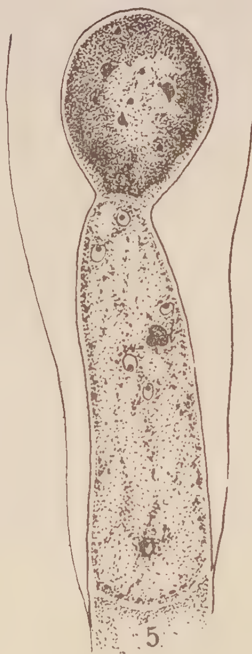

5

PLANCHE IV

Ascoidea rubescens Brefeld.

Fig. 1. — Cytome dans un jeune sac sporifère.

Fig. 2. — Cytome déjà légèrement modifié dans un jeune sac sporifère secondaire en voie de formation.

Fig. 3. — Cytome en voie de transformation dans une cellule végétative qui va donner un sac sporifère.

Fig. 4. — Cytome ayant déjà subi certaines modifications dans un sac sporifère secondaire et localisé surtout à la périphérie.

Fig. 5. — Cytome dans un sac sporifère secondaire ayant encore assez bien conservé son aspect primitif.

Fig. 6. — Cytome d'un sac sporifère pendant la division des noyaux.


1
2
3
4
5
6

PLANCHE V

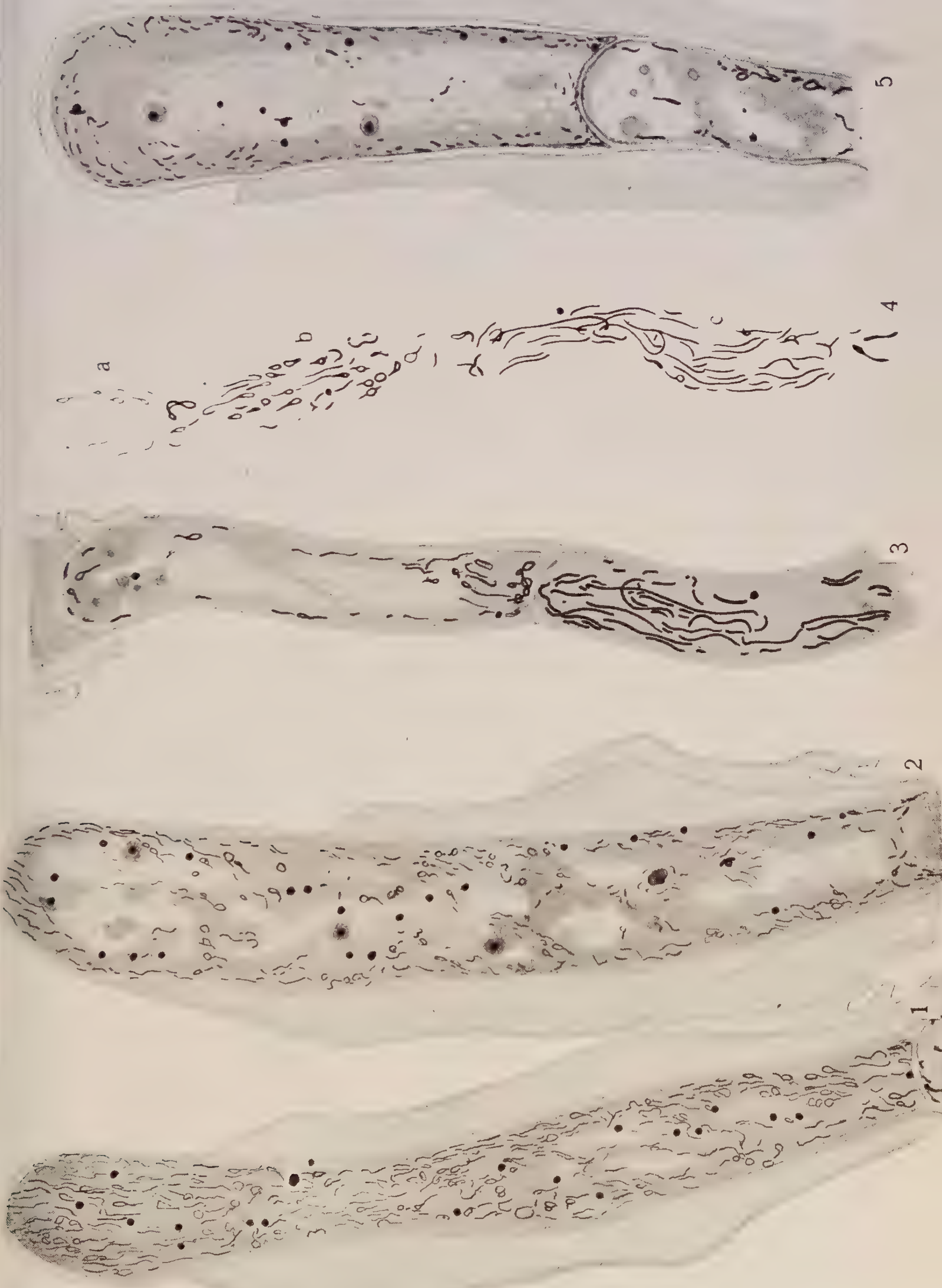
Ascoidea rubescens Brefeld.

Fig. 1-2. — Cytome venant de traverser le stade « vésiculaire » : surtout localisé à la périphérie (fig. 2).

Fig. 3-4. — Le filament mycélien portant le sac sporifère est coupé dans le sens longitudinal. Dans les cellules végétatives on trouve les différents aspects que présente le cytome au cours de son évolution dans le sac sporifère (fig. 3).

(Fig. 4 *a*. Cytome du sac sporifère après le stade « vésiculaire ». Fig. 4 *b*. Cytome de la cellule sous-jacente qui, à la suite d'une modification précoce en sac sporifère a changé d'aspect. Il est au stade « vésiculaire ». Fig. 4 *c*. Cytome d'une cellule végétative présentant le même aspect que le jeune sac sporifère représenté dans la fig, 1, pl. IV).

Fig. 5. — Cytome ayant traversé le stade, « vésiculaire ». La plupart de ces éléments se trouvent à la périphérie. (Sac sporifère coupé un peu obliquement les cytosomes semblent être plus courts qu'ils ne le sont en réalité.)



5
4
a
b
c
3
2
1

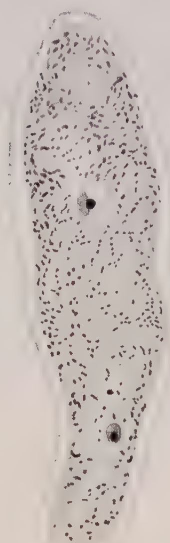
PLANCHE VI

Ascoidea rubescens Brefeld.

Fig. 1-4. — Différents aspects du cytome au cours de son évolution.
Fig. 5-6. — Cytome au moment de la formation des spores.
Fig. 7. — Cytome de jeunes spores.


1


2


3


4


5


6

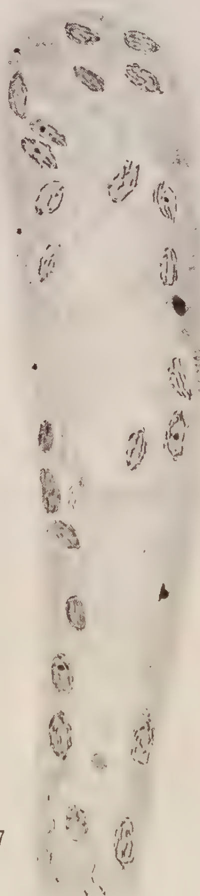

7

PLANCHE VII

Ascoïdea rubescens Brefeld.

Fig. 1-3. — Cytome pendant la maturation des spores.
Fig. 4. — Cytome dans les spores mûres après leur mise en liberté.


4
3
2
1

PLANCHE VIII

Ceratostomella piceae Münch.

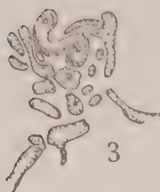
Fig. 1. — Organes initiaux du périthèce (Ascogone — recourbé et binucléée. Trophogone — cellule plus petite uninucléée).
Fig. 2. — L'ascogone est enroulé autour du trophogone.
Fig. 3-4. — Développement de l'ascogone et disparition du trophogone.
Fig. 5-7. — Différents aspects du jeune périhèce.
Fig. 8. — Formation des hyphes ascogènes par ramification de l'ascogone.
Fig. 9-10. — Différents stades du développement ultérieur du périthèce. Au milieu on trouve les grandes cellules provenant de l'ascogone.



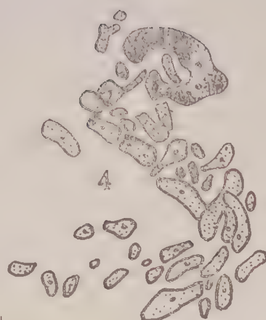
1



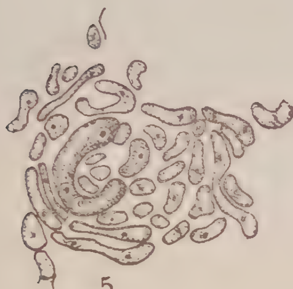
2



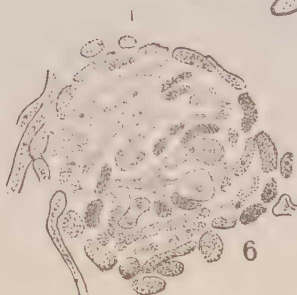
3



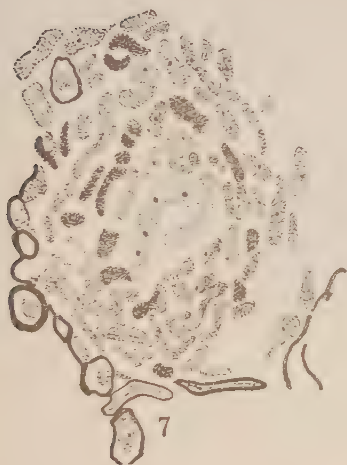
4



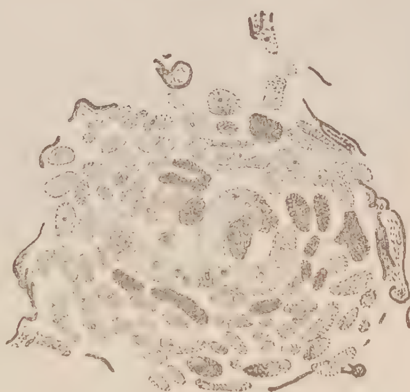
5



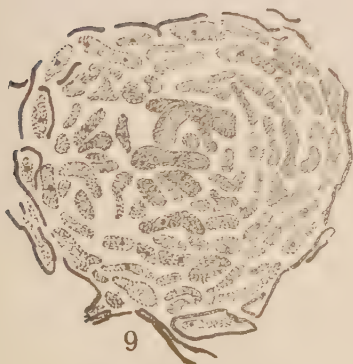
6



7



8



9



10

PLANCHE IX

Ceratostomella piceae Münch.

Fig. 1. — Début de la formation du col du périthèce. A la base on voit les grandes cellules polyénergides qui se forment à la suite d'une transformation de l'ascogone.

Fig. 2. — Apparition de la cavité centrale et début de la formation des asques.

2

1

PLANCHE X

Ceratostomella piceae Münch.

Fig. 1. — Position centrale de tissu ascogène.
Fig. 2, *a-u*. — Formation des crochets, des asques et des ascospores.

1



2

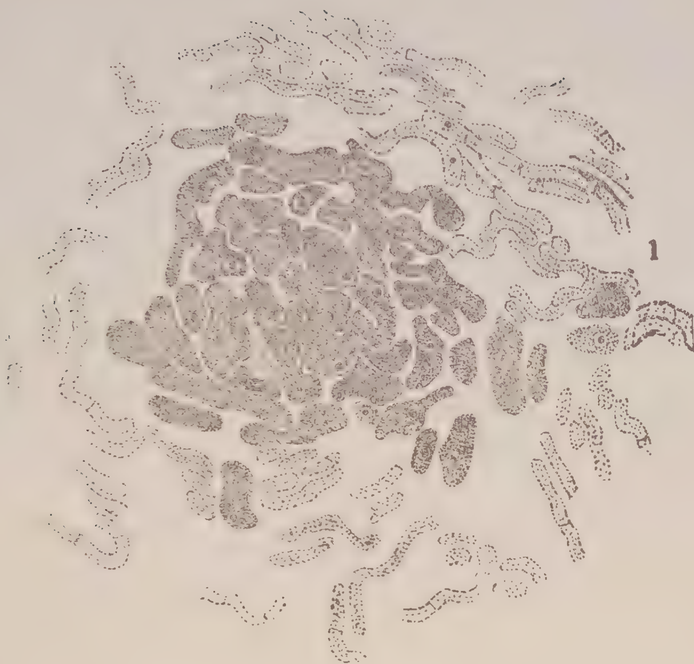




PLANCHE XI

Cordyceps militaris (L.) Link.

Fig. 1. — Peloton qui va former un périthèce.
Fig. 2. — Jeune périthèce.


1

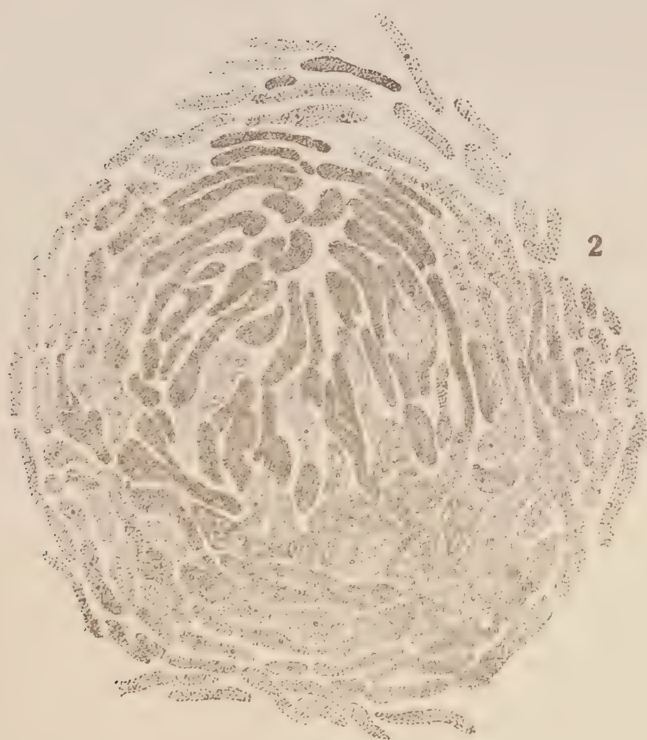
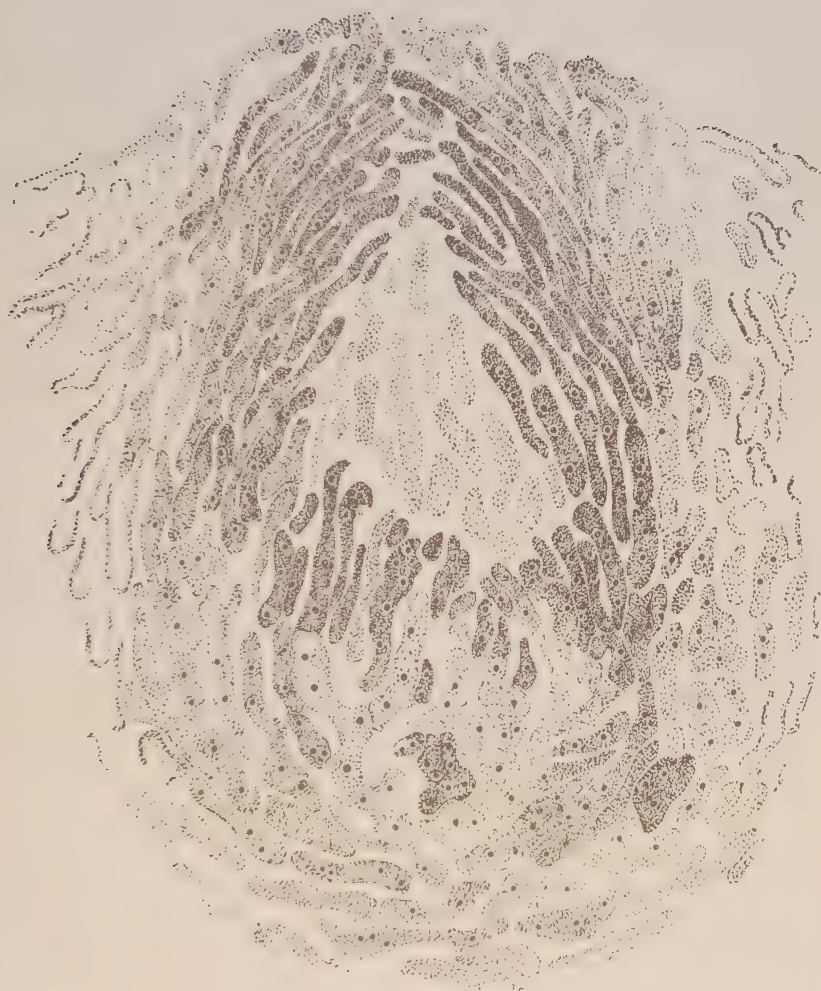

2

PLANCHE XII

Cordyceps militaris (L.) Link.

Fig. 1. — Ramification des hyphes ascogènes dans un jeune périthèce.



1

PLANCHE XIII

Cordyceps militaris (L.) Link.

Fig. 1. — Crochets à deux noyaux.
Fig. 2. — Crochet à 4 noyaux.
Fig. 3. — Jeune asque à deux noyaux.
Fig. 4. — Ramification des hyphes ascogènes.
Fig. 5. — Formation probablement tératologique dans le périthèce adulte.
Fig. 6-7. — Jeunes asques à deux noyaux qui vont se fusionner. A côté de chaque noyau on trouve un centrosome.
Fig. 8. — Noyau double.
Fig. 9. — Prophase du noyau double.
Fig. 10-16. — Différents stades de trois divisions successives donnant les huit noyaux.
Fig. 17. — Formation libre d'un embryon de l'ascospore (processus décrit par Harper).
Fig. 18. — Embryons des ascospores.
Fig. 19. — Transformation des embryons en ascospores.
Fig. 20. — Asque avec ascospores mûres.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20

PLANCHE XIV

Nummularia Bulliardi Tul.

Fig. 1. — Jeune ascogone.
Fig. 2. — Ascogone commençant à s'enrouler.
Fig. 3-6. — Pelotons formés en grande partie par les hyphes végétatives, se transformant plus tard en périthèces (au centre de ces pelotons on voit l'*Hyphe de Woronin* provenant de l'ascogone).

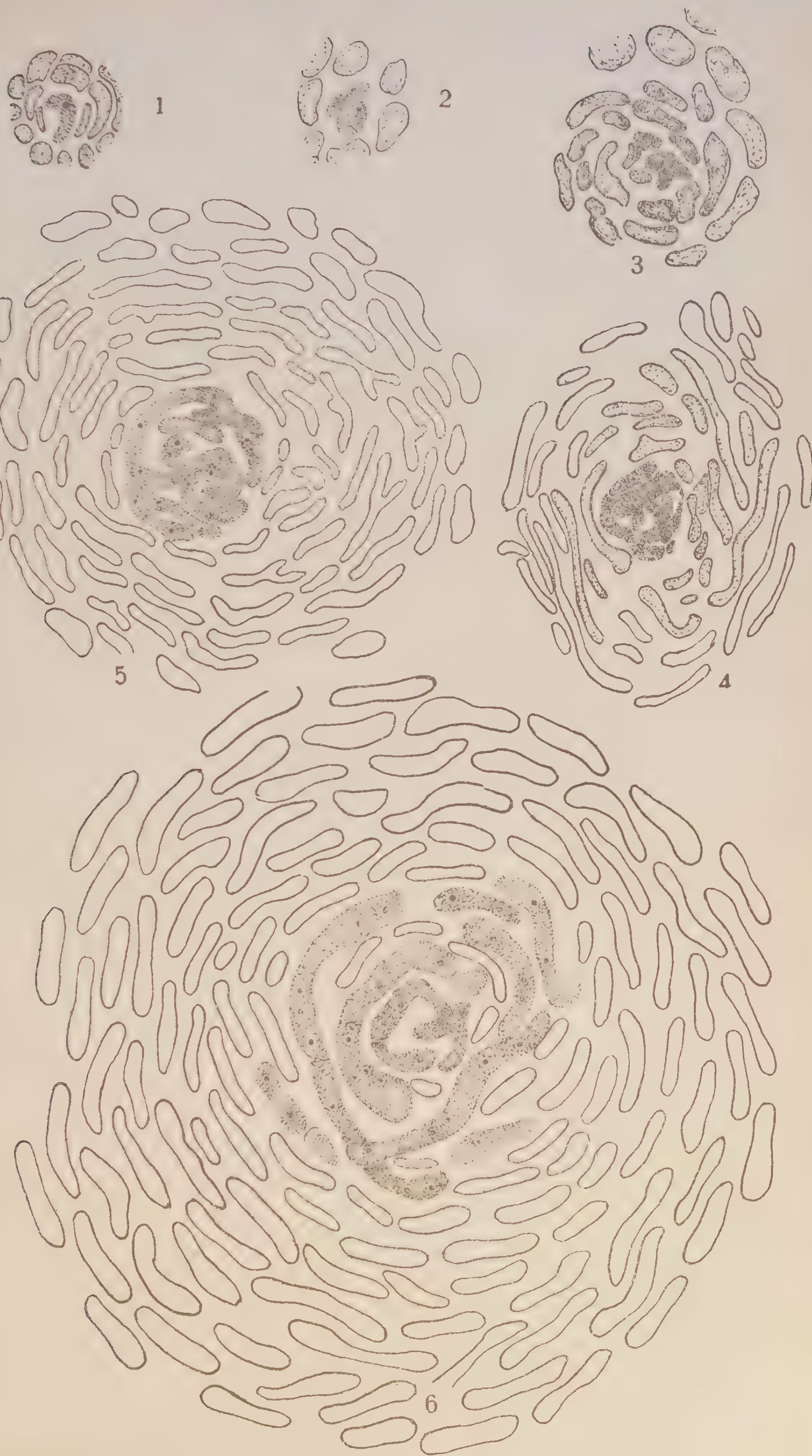

1
2
3
4
5
6

PLANCHE XV

Xylaria polymorpha (Pers.) Grev.

Fig. 1-4. — Origine de la série des cellules caractéristiques.

Fig. 5. — Série caractéristique avec un grand article qui se transforme probablement en *Hyphe de Woronin.*

Fig. 6-9. — Un article de cette série ordinairement plus grand que les autres, commence à s'enrouler.

Fig. 10. — Stade plus avancé dans lequel on voit déjà nettement la jeune *Hyphe de Woronin.*

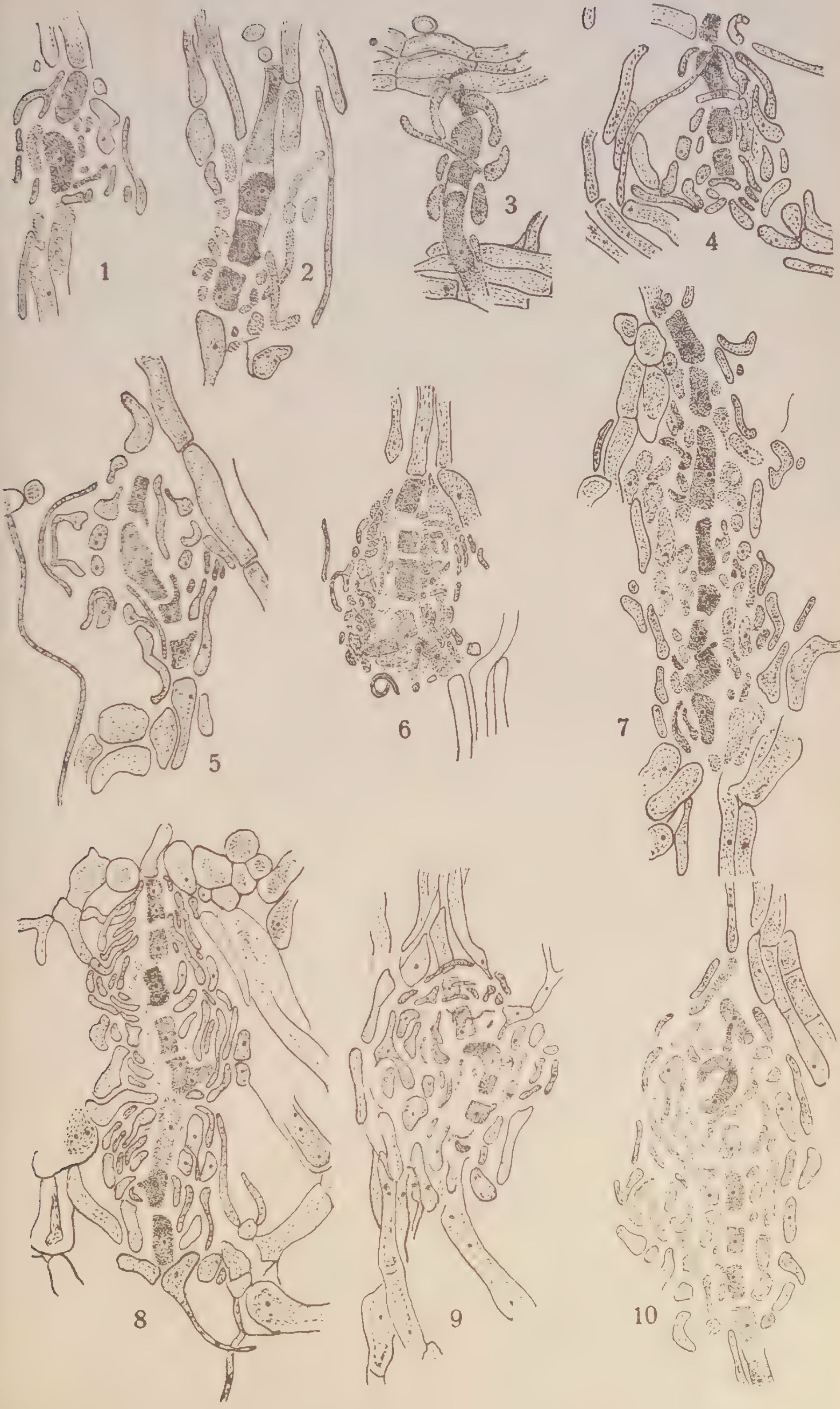

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

PLANCHE XVI

Xylaria polymorpha (Pers.) Grev.

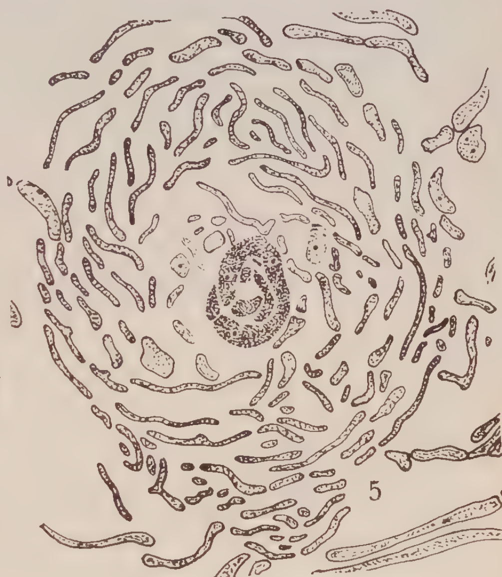
Fig. 1-3.— Différents aspects dans les préparations coupées perpendiculairement à la série des cellules caractéristiques.
Fig. 4. — Article de la série caractéristique qui a fourni par son développement l'*Hyphe de Woronin.*
Fig. 5. — Peloton constitué par les hyphes végétatives au milieu desquelles on voit l'*Hyphe de Woronin.*
Fig. 6-7. — Différents stades pendant l'évolution de l'*Hyphe de Woronin*

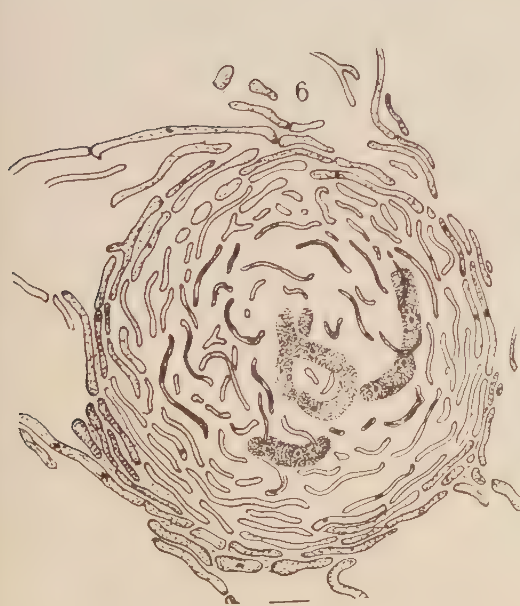

1


2


3


4


5


6


7

PLANCHE XVII

Xylária polymorpha (Pers.) Grev.

Fig. 1-22. — Différents aspects des noyaux dans les articles de l'*Hyphe de Woronin.*


1
2
3
4
5
6
11
14
18
19
20
12
21
22
7
13
9
15
8
10
16
17

PLANCHE XVIII

Xylaria polymorpha (Pers.) Grev.

Fig. 1. — Peloton avancé dans son développement, avec l'*Hyphe de Woronin* dont les articles semblent être binucléés.
Fig. 2. — Peloton en voie de transformation en périthèce.

2

1

PLANCHE XIX

Xytaria polymorpha (Pers.) Grev.

Fig. 1. — Origine des hyphes ascogènes.

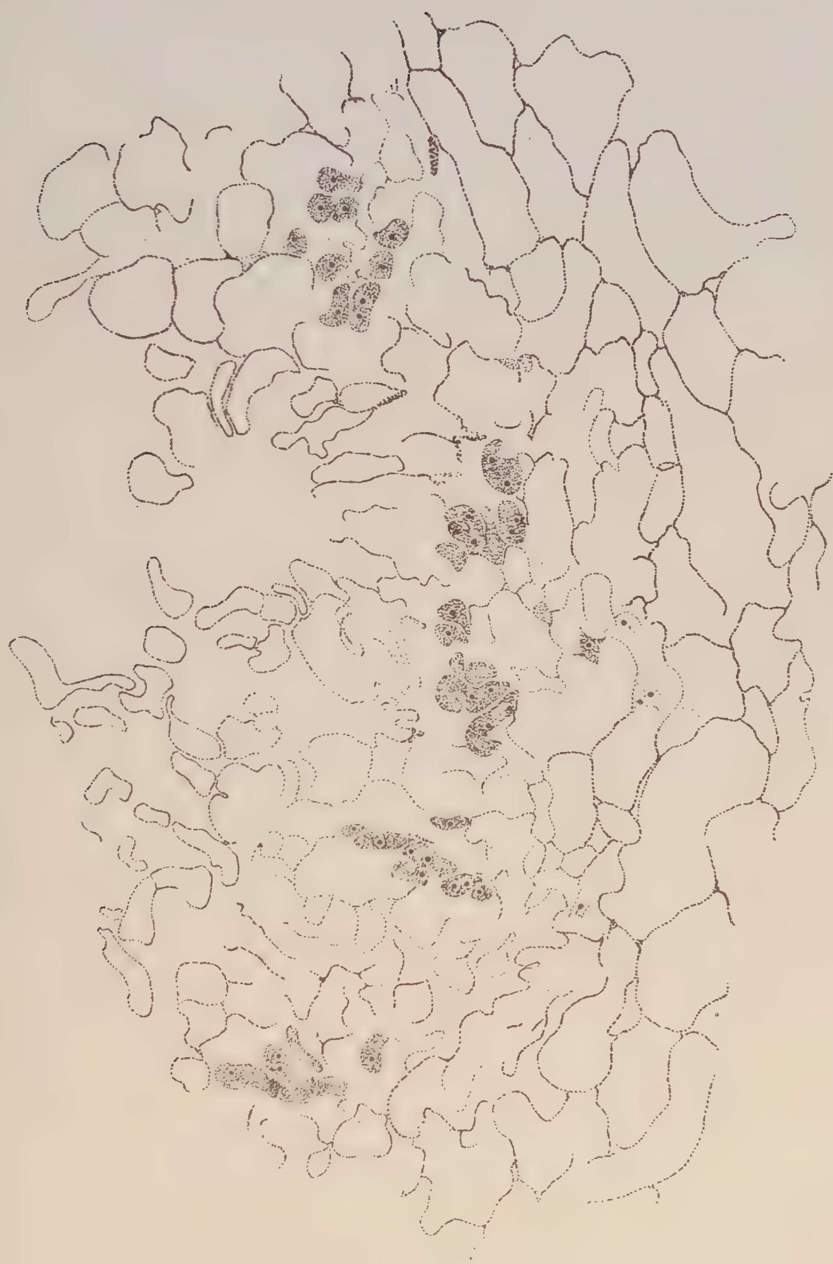
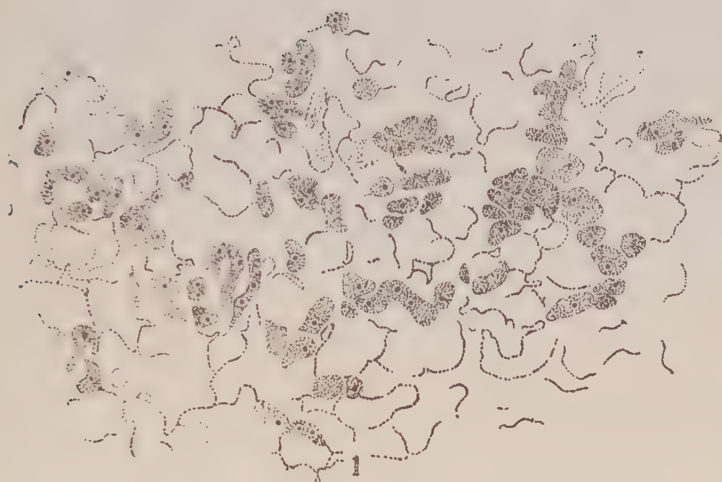


PLANCHE XX

Xylaria polymorpha (Pers.) Grev.

Fig. 1. — Début des hyphes ascogènes dans une préparation coupée parallèlement à la base du périthèce.
Fig. 2. — Portion du périthèce avec les asques plus ou moins mûrs.





2

L'OVULE ET LA GRAINE DE L'*ERYTHRONIUM DENS-CANIS* L. LA POLYEMBRYONIE

par Paul Guérin.

Le genre *Erythronium*, de la famille des Liliacées, comprend une vingtaine d'espèces dont la plupart sont répandues en Amérique boréale. Il n'est représenté, en France, que par une seule, l'*Erythronium Dens-canis* L., assez commune dans les bois et prairies des montagnes : Alpes, Cévennes et tout le Plateau central jusqu'au Limousin ; Corbières et Pyrénées, jusque dans les Landes (1).

La couleur des fleurs et les taches brun rougeâtre que présentent les feuilles fourniraient, d'après certains auteurs, l'explication du mot *Erythronium*, et notre espèce française tirerait son nom de la forme en dent de chien des 1 à 3 caïeux que produit le bulbe.

Parmi les espèces américaines, deux d'entre elles, *E. americanum* Ker-Gawl. et *E. albidum* Nutt., ont donné lieu, de la part de E. C. Jeffrey et J. H. Schaffner, à d'intéressantes observations, en ce qui concerne le développement de l'œuf et de l'embryon.

En 1895, E. C. Jeffrey (2), étudiant la fécondation et le développement de l'embryon chez l'*Erythronium americanum* Ker-Gawl. constatait, dans cette espèce, la formation, aux dépens de l'œuf, d'un abondant massif cellulaire

1. Les échantillons utilisés pour notre étude proviennent des environs de Bagnères-de-Bigorre (Hautes-Pyrénées) et nous ont été aimablement procurés par notre collègue et ami M. Goris, à qui nous adressons ici tous nos remerciements.

2. E. C. Jeffrey, Polyembryony in *Erythronium americanum* (*Annals of Botany*, 9, 1895, p. 537-541, pl. XIX).

(*embryogenic mass*) d'où émergent, à un moment donné, jusqu'à quatre embryons, le nombre le plus fréquent étant de deux, parfois de trois. Cette observation était du plus haut intérêt puisqu'elle constituait le premier exemple, chez les Angiospermes, d'une polyembryonie analogue à celle qui se produit normalement chez certains Conifères.

En 1901, J. H. Schaffner (1), dans une étude très complète des appareils reproducteurs et du développement de l'embryon, chez les *E. americanum* Ker-Gawl. et *E. albidum* Nutt., complète les observations de E. C. Jeffrey et mentionne, chez la seconde espèce, la formation d'un suspenseur également large, irrégulier et très lobé, mais associé, dit-il, à un seul embryon (2).

L'*Erythronium Dens-canis* L. n'a fait l'objet, de la part d'Hofmeister (3), que d'une remarque insignifiante, l'auteur se bornant à représenter, dans le haut du sac embryonnaire, un massif pluricellulaire sans origine précise. C'est pourquoi nous avons cru bon d'aborder l'étude de cette espèce, en prenant l'ovule à son origine et en suivant pas à pas les modifications dont il est le siège au cours de la maturation de la graine. Ces recherches devaient nous amener à constater, chez cette Liliacée, une polyembryonie comparable à celle de l'*Erythronium americanum* Ker-Gawl.

Ainsi que l'avait observé J. H. Schaffner, et comme nous l'avons constaté nous-même, le sac embryonnaire, chez les *Erythronium*, tire directement son origine d'une cellule sous-épidermique du nucelle ovulaire (fig. I, 1). Ce mode de formation, plutôt exceptionnel, est analogue à celui que l'on connaît depuis longtemps chez les *Lilium*, *Tulipa* et *Fritillaria*. Il se trouve être en concordance avec le rapprochement, par Engler, de ces quatre genres dans

1. J. H. Schaffner, A contribution to the life history and cytology of *Erythronium* (*Bot. Gazette*, 31, 1901, p. 369-387, pl. IV-IX).

2. La figure 85 donnée par l'auteur (Pl. IX) fournit toutefois l'impression de la formation de plusieurs embryons.

3. W. Hofmeister, Neue Beiträge zur Kenntniss der Embryobildung der Phanerogamen, II. Monocotyledonen. Leipzig, 1861.

une même tribu, celle des *Lilioideae-Tulipeae*, qui comprend, en outre, les *Calochortus* et *Lloydia* (*Die nat. Pflanzenfamilien*, II, 5, p. 60).

Les divisions successives qui s'accomplissent dans ce sac, chez l'*Erythronium Dens-canis* L., pour donner l'oos-

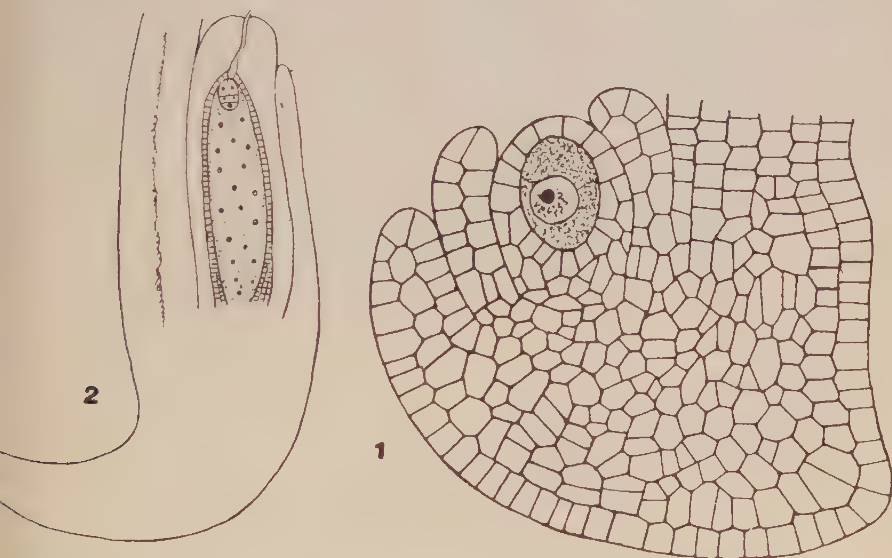


Fig. I. — *Erythronium Dens-canis.* 1. Coupe longitudinale de l'ovule très jeune. La cellule privilégiée, située sous l'épiderme nucellaire, est appelée à donner directement le sac embryonnaire. *Gr.* : 260. 2. Coupe longitudinale de l'ovule adulte, déjà pourvu de nombreux noyaux d'albumen, dont l'extrémité inférieure s'allonge en un long appendice. *Gr.* : 50.

phère et les synergides, les antipodes et le noyau secondaire, n'offrent aucune particularité. L'épiderme du nucelle reste simple, au moins dans la région micropylaire et s'y trouve recouvert, dans l'ovule adulte, qui est anatrope, par les bords épaissis du tégument interne (fig. I, 2). Ce dernier ne présente sur tout le reste de sa surface, et jusque dans la région chalazienne, que deux assises de cellules. Dans le tégument externe, le nombre de ces assises peut s'élever jusqu'à quatre.

De bonne heure, l'extrémité inférieure de l'ovule s'allonge en un appendice qui, dans la graine mûre, peut atteindre une longueur de 4 à 5 millimètres, égale à celle de la graine contre laquelle il se recourbe sous forme d'un filament de teinte blanche, considéré bien à tort, par certains auteurs, comme un arille.

Au cours du développement de l'ovule, le nombre des

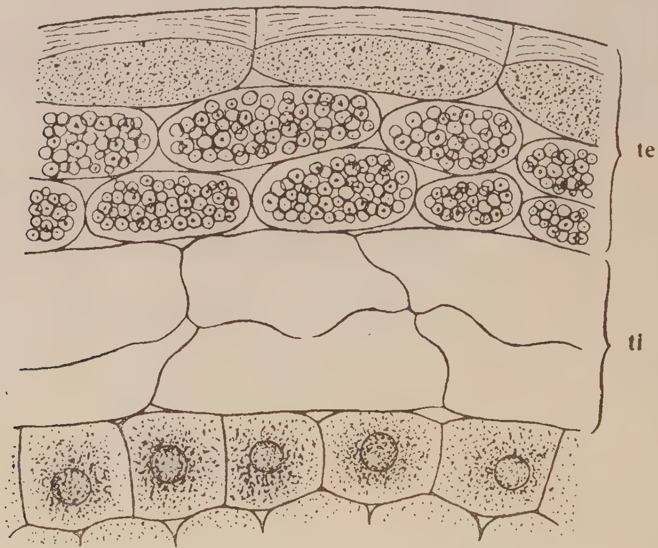


Fig. II. — *Erythronium Dens-canis*. Coupe transversale de l'enveloppe séminale, avant complète maturité de la graine. *te* : tégument externe de l'ovule avec amidon ; *ti*, tégument interne au voisinage duquel l'albumen commence à s'organiser en tissu. *Gr.* : 280.

assises cellulaires ne se modifie pas, mais, bien avant la maturation, une différence notable se manifeste, dans l'enveloppe séminale, entre les cellules qui proviennent du tégument externe et celles du tégument interne.

Sous un épiderme à membrane externe épaissie, et dont les éléments renferment une matière brunâtre communiquant à la graine sa coloration, les cellules sous-jacentes sont bourrées d'amidon à grains arrondis et à hile très apparent (fig. II). Cet ensemble recouvre les deux assises

du tégument interne (*ti*) dont les cellules à parois minces se montrent, à ce stade, dépourvues de tout contenu. Elles sont d'ailleurs appelées à disparaître complètement dans la suite, le tégument ovulaire externe concourant seul à la formation du tégument séminal. Avec l'organisation de l albumen en tissu, le nucelle est complètement résorbé.

Non seulement l'amidon envahit la région externe de l'enveloppe séminale, mais l'appendice terminal de la graine s'en montre lui-même gorgé et l'eau iodée permet d'en déceler encore des traces à un stade très voisin de la maturité de la graine, alors que le tégument séminal n'en contient plus. Il est à peine besoin d'ajouter que, finalement, l'amidon a totalement disparu des diverses régions où il abondait à l'origine.

Après fécondation de l'oosphère, l'œuf se divise, par une cloison le plus souvent horizontale, parfois légèrement oblique, en deux cellules superposées, alors que déjà sont apparus les premiers noyaux d'albumen. Chacune des deux cellules se cloisonne à son tour, la cellule supérieure se divisant, tantôt la première, tantôt la seconde, mais dans le sens vertical (fig. III, 1) et fig. IV, 1), tandis que le premier cloisonnement dans la cellule basale est transversal (fig. IV, 1) ou faiblement incliné (fig. IV, 2). Ce sens différent de division, plusieurs fois rencontré, permet de suivre séparément, dans les stades ultérieurs, les éléments provenant de chacune des deux cellules issues du premier cloisonnement de l'œuf.

Quel que soit leur ordre d'apparition, les cellules issues de la cellule supérieure s'allongent et se renflent plus ou moins ; par suite de cloisonnements répétés, elles donnent lieu à un massif cellulaire souvent assez développé, alors que la cellule inférieure n'a encore fourni, sur un premier plan, que deux à trois éléments cellulaires (fig. IV, 3 et 4). A un stade un peu plus avancé (fig. IV, 5), les deux grandes cellules provenant de la cellule supérieure se mon-

trent nettement distinctes de celles qui résultent du cloisonnement de la cellule de base primitive.

La différenciation s'accentue encore dans la suite entre les éléments issus de chacune des deux cellules dérivant de la première bipartition de l'œuf. Les cellules supérieures, très développées, le plus souvent vacuolaires, et renfermant d'ordinaire plusieurs noyaux pourvus de gros nu-

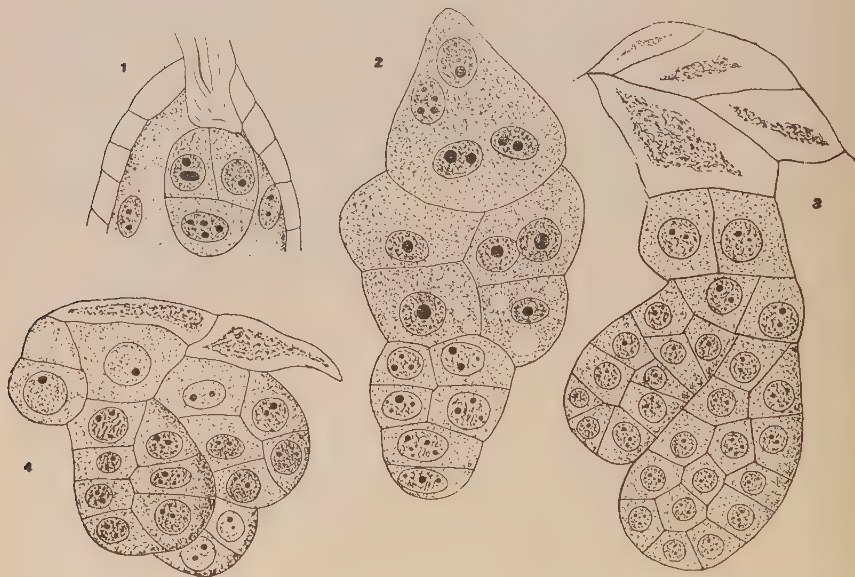


Fig. III. — *Erythronium Dens-canis*. 1. Premières divisions de l'œuf et premiers noyaux d'albumen. 2. Suspenseur et embryon nettement distincts ; 3 et 4. L'œuf a donné deux et trois embryons et les cellules du suspenseur sont en voie de résorption. *Gr.* : 290.

cléoles, contrastent nettement avec les cellules inférieures. Les premières peuvent être considérées, d'après leur origine, comme constituant le suspenseur proprement dit, tandis que les secondes représentent l'embryon (fig. III, 2).

La formation d'un embryon unique n'est pas rare, mais celle d'embryons multiples, par suite du bourgeonnement de cellules du massif cellulaire inférieur, semble être le

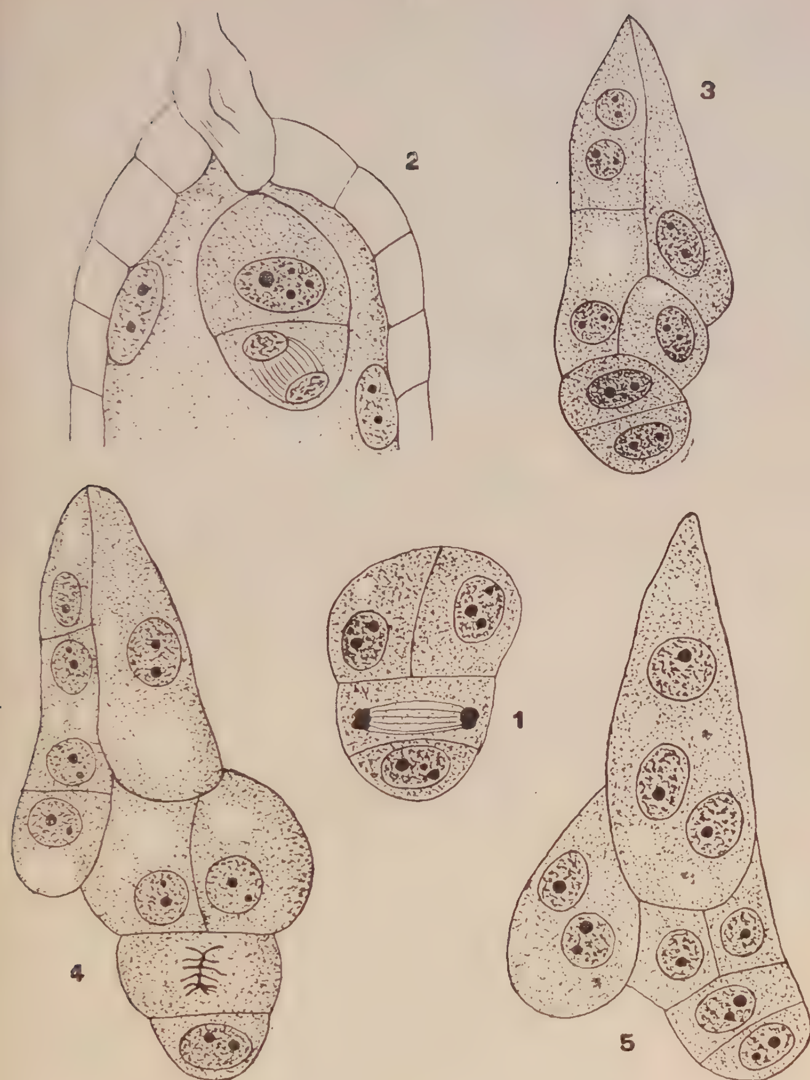


Fig. IV. — *Erythronium Dens-canis*. 1. Des deux cellules issues du cloisonnement de l'œuf, l'inférieure s'est divisée transversalement et la supérieure dans le sens vertical. 2. La cellule inférieure est en voie de division, le cloisonnement définitif paraissant devoir être faiblement incliné. La cellule supérieure possède deux noyaux dont un seul est visible dans la préparation, 3, 4, 5. Les éléments provenant de la cellule inférieure, et qui doivent donner l'embryon, se montrent nettement distincts de ceux dérivant de la cellule supérieure et devant constituer le suspenseur. *Gr.* : 430.

cas le plus fréquent. Des coupes longitudinales nous ont permis d'en observer deux (fig. III, 3) et jusqu'à trois dans le même plan (fig. III, 4), d'autres pouvant se trouver dans des plans différents.

Les cellules du suspenseur paraissent ne contenir aucune substance de réserve à l'état figuré et subir simplement une résorption progressive de leur contenu protoplasmique, au profit du développement embryonnaire. Elles ont complètement disparu dans la graine mûre.

En même temps que s'opère la première bipartition de l'œuf, déjà les premiers noyaux d'albumen apparus entrent en voie de division. Leur multiplication est rapide ; toutefois ils ne s'organisent pas en tissu, dans la suite, d'une façon complète. Alors que trois à quatre assises de cellules tapissent la presque totalité de la paroi du sac embryonnaire, la région chalazienne présente un aspect tout différent. Les noyaux d'albumen y demeurent libres (fig. V, 1), noyés dans un abondant cytoplasme plus ou moins vacuolaire. Leur grosseur est des plus variables, mais l'intérêt qu'ils présentent réside surtout dans le fait que beaucoup d'entre eux se fusionnent, en donnant naissance à des masses nucléaires aux formes les plus diverses (fig. V, 2). Au cours du développement de l'ovule en graine, la résorption de ces noyaux est complète et l'albumen, à parois dures et épaissies, remplit tout le sac embryonnaire.

L'existence de noyaux d'albumen libres dans le sac embryonnaire, sans formation de tissu cellulaire, a été signalée chez un certain nombre d'espèces. Chez les Liliacées, Ikeda (1) a mentionné depuis longtemps, dans le *Tricyrtis hirta* Hook., la présence de tels noyaux répandus dans un sac embryonnaire rempli de cytoplasme, et offrant les formes les plus irrégulières et les plus bizarres.

1. T. Ikeda, Studies in the physiological functions of antipodals and related phenomena of fertilization in Liliaceae. 1. *Tricyrtis hirta* (*Bull. Coll. Agric. Imp. Univ. Tokyo* 5, 1902, 41-72, pl. 3-6).

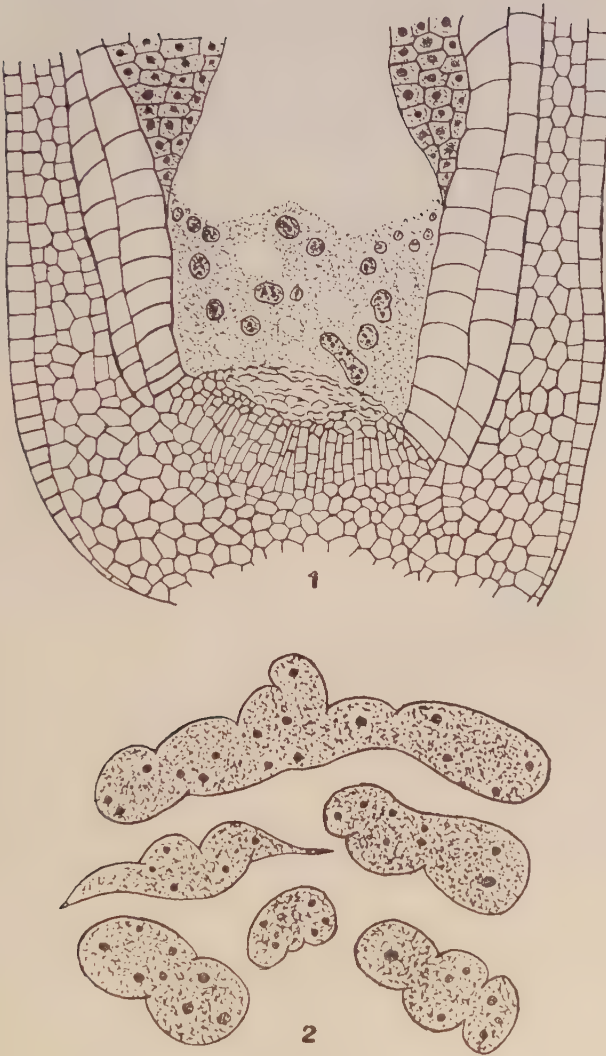


FIG. V. — *Erythronium Dens-canis.* 1. Coupe longitudinale de l'ovule. Dans la région chalazienne, l'albumen n'est pas organisé en tissu. Les noyaux y demeurent libres et se fusionnent plus ou moins. *Gr.* : 60. 2. Noyaux fusionnés. *Gr.* 430.

Pour intéressante que puisse être la fusion des noyaux en question chez l'*Erythronium Dens-canis* L., elle ne constitue pas non plus un fait isolé : des karyogamies sans caractère sexuel sont connues dans des tissus végétaux assez divers, soit dans les conditions normales de la vie, soit sous des influences pathologiques. Des fusions nucléaires interviennent normalement entre les noyaux pariétaux, dans l'albumen de nombreuses Angiospermes. Le *Fritillaria imperialis* L., d'après Dixon (1) et Saame (2), et le *Tulipa Gesneriana* L., d'après A. Ernst (3), parmi les Liliacées, en offrent des exemples. Toutefois, nos observations semblent se rapprocher plus particulièrement de celles de Buscalioni (4) qui, en 1898, mentionnait dans la région chalazienne du sac embryonnaire et dans l'albumen pariétal de *Vicia Faba* L. et de *Phaseolus multiflorus* Willd., l'existence de noyaux énormes, oscillant de 180 à 300 µ et plus, visibles à l'œil nu, noyaux les plus gros, sans doute, que l'on connaisse dans le règne végétal.

La polyembryonie observée par nous chez l'*Erythronium Dens-canis* L. est absolument comparable à celle offerte par l'*Erythronium americanum* Ker-Gawl., puisqu'elle dérive également de l'oosphère fécondée. Les exemples d'un phénomène analogue sont peu nombreux et n'ont été signalés, d'autre part, que chez le *Tulipa Gesneriana* L. par A. Ernst (5) et dans le *Vincetoxicum nigrum*

1. H. H. Dixon, Note on the nuclei of the endosperm of *Fritillaria imperialis* (*Proceed. of the R. Irish Acad.*, III, 3, 1896).

2. O. Saame, Uber Kernverschmelzung bei der karyokinetischen Kernteilung im protoplasmatischen Wandbelag des Embryosacks von *Fritillaria imperialis* (*Bericht. d. d. bot. Gesells.*, XXIV, 1906, 300-309, pl. XIV).

3. A. Ernst, Beiträge zur Kenntniss der Entwickelung des Embryosackes und des Embryo (Polyembryonie von *Tulipa Gesneriana* L. (*Flora*, 88, 1901, p. 37-77, pl. 4-8).

4. L. Buscalioni, Osservazioni e ricerche sulla cellula vegetale (*Annuario del R. Istituto botanico di Roma*, VII, 1898).

5. A. Ernst, *loc. cit.*

Mœnch où L. Guignard (1) a pu observer jusqu'à huit embryons. Quel qu'en soit le nombre, dans tous les cas connus, un seul embryon continue, en définitive, son développement.

1. L. Guignard, La fécondation et la polyembryonie chez les *Vincetoxicum* (*Mémoires de l'Académie des Sciences*, 57, 1921, 25 pages et 64 figures).

NOUVELLES RECHERCHES SUR LES ÉCHANGES D'IODE DES ALGUES MARINES

par Pierre Dangeard.

HISTORIQUE

Nous avons montré en 1928 que certaines Phéophycées et principalement les Laminaires (*Laminaria*) avaient la propriété d'émettre de l'iode libre pendant leur vie normale et dans des conditions telles qu'elles permettaient de penser qu'il s'agissait d'un phénomène physiologique habituel chez ces algues [1]. C'est à cette propriété que nous avons donné le nom d'iodovolatilisation [2]. Peu après l'observation en était étendue aux Laminaires de Norvège, de l'île Jan Mayen et d'Islande.

Le dégagement d'iode libre était constaté au moyen principalement de papier amidonné (papier bristol) naturel, ou mouillé d'eau de mer et par conséquent non acide, placé soit au contact des thalles où il se colorait rapidement en bleu, soit à une petite distance, où la coloration était obtenue également, bien que moins rapidement. Les faits précédents étaient obtenus au cours de l'année 1928 à différentes époques et en différentes stations, aux divers moments de la marée basse et sur les algues immergées elles-mêmes [3]. Par contact, la coloration d'un papier amidonné se produisait encore très nettement sur des Laminaires recouvertes de trois mètres d'eau.

Notre attention s'était portée immédiatement sur les facteurs qui pouvaient influer sur cette iodovolatilisation. Nous montrions tout d'abord que la lumière n'avait pas d'action déterminante efficace ; d'autre part, le phénomène s'atténuait sur les algues coupées, puis disparaissait bientôt, mais il était possible alors, tant que les algues étaient vivantes, de le faire reparaître, de le provoquer, soit au moyen de traumatismes, soit par des agents d'altération variés (alcool, acides, chaleur, nécrose naturelle) [2, 3, 6].

Au sujet du mécanisme de l'iodovolatilisation nous avons admis qu'il s'agissait d'une décomposition des iodures des tissus produite par l'activité des cellules épidermiques que nous avons qualifiées de *cellules iodogènes*, décomposition qui devait être vraisemblablement attribuée à des oxydases agissant au contact de l'oxygène extérieur. L'épaisse membrane extérieure des cellules épidermiques est supposée jouer un rôle important dans ce mécanisme.

Nous avons montré que l'iode libre était produit par l'assise iodogène, mais que cet iode n'apparaissait pas à l'intérieur des cellules, mais seulement au niveau de la membrane extérieure.

Dans une note spécialement consacrée à l'action des iodures [4, 1928], nous avons fait connaître que ces composés, en dissolution dans l'eau de mer, favorisaient beaucoup l'iodovolatilisation. Nous avons expliqué cet effet en admettant que les iodures sont absorbés par les cellules iodogènes, dont ils viennent exciter l'activité en leur fournissant l'aliment de leur production d'iode libre. Cette action des iodures permet d'observer facilement l'iodovolatilisation chez plusieurs Fucacées et chez certaines Floridées.

Tels sont les faits principaux signalés par nous en 1928, ou que nous avons exposés avec des développements et des compléments dans un Mémoire paru en 1929. [5] Peu après, nous donnions une liste des algues chez lesquelles

nous avions reconnu la présence d'iodures en quantité appréciable [6] et nous donnions le résultat de nos expériences sur le rôle de l'oxygène qui est indispensable à l'iodovolatilisation [7].

A la fin de 1929, ou au début de 1930, paraît un important travail de Kylin sur les iodures, les bromures et les ioduroxydases chez les Algues marines [14]. Ce mémoire donne de nombreux renseignements sur la teneur en iodures et en bromures de diverses algues marines obtenus soit par la méthode qualitative, soit par la méthode du bleu de crésyl, soit par la méthode quantitative. Un chapitre spécial est consacré aux oxydases d'iodures (iodidoxydasen) qui sont mises en évidence chez de nombreuses Floridées suivant une méthode analogue à celle qu'avait employée Gertz auparavant.

Chez les Laminaires et chez les Fucacées Kylin constate qu'un papier amidonné et ioduré se colore rapidement au contact de ces algues fraîches et il voit dans ce fait la preuve que ces Phéophycées laissent diffuser très facilement des oxydases en dehors de leurs cellules vivantes [14, p. 78, p. 80].

Il cherche d'autre part à reconnaître l'existence de l'iodovolatilisation des Laminaires sur les côtes de Suède. Pour cela il réalise trois expériences : dans la première, il dépose de petits morceaux du thalle frais d'une espèce de *Laminaria* entre deux papiers amidonnés, le tout étant placé à l'intérieur d'une boîte de Petri et il poursuit l'expérience durant 24 heures ; il observe que les papiers ne se colorent pas en bleu, sauf quelquefois au voisinage des sections. Dans une deuxième expérience il met la partie inférieure de la fronde d'une *Laminaria digitata* dans un plus grand cristallisoir à couvercle rodé et place sur cette fronde un papier amidonné. Il constate, après 24 heures que le papier n'est pas coloré. Dans la troisième expérience quelques fragments du thalle de *Laminaria digitata* sont placés dans un cristallisoir à couvercle rodé, un pa-

pier amidonné est collé à la face inférieure du couvercle et l'essai poursuivi durant 24 heures sans que le papier se colore [14, p. 79].

Kylin, à la suite de ces expériences, est très affirmatif : d'après lui les espèces de *Laminaria* (*L. Cloustoni*, *L. digitata*, *L. saccharina*) sur les côtes de Suède ne volatilisent aucune quantité appréciable d'iode ; autrement dit, l'iodovolatilisation n'existe pas en Suède. Pour expliquer les résultats différents obtenus par nous en France, Kylin émet la supposition que les papiers-bristol employés par nous pour démontrer l'émission d'iode, contenaient des iodures [14, p. 80].

Il est difficile évidemment d'admettre que les mêmes espèces de Laminaires se comportent très différemment sur les côtes de France et sur les côtes suédoises et nous avons montré dernièrement [9, 1930] que les expériences de Kylin, ci-dessus décrites, ne convenaient pas pour démontrer l'iodovolatilisation des Laminaires, en particulier parce qu'elles étaient réalisées en atmosphère confinée ; or l'oxygène est absolument nécessaire pour que le phénomène se produise [7]. L'iodovolatilisation d'autre part a lieu dans les conditions normales de la vie des Laminaires et, par des essais en boîte de Petri, on ne se place pas dans les meilleures conditions pour l'observer. Malgré tout, des expériences semblables à celles de Kylin permettent de constater l'iodovolatilisation si l'on observe le papier amidonné dans les premières minutes de l'essai et non après 24 heures. Le papier bristol que nous utilisons ne contient pas trace d'iodures et, d'ailleurs, sa coloration a été obtenue à distance [8, p. 51, p. 58].

Dans une Note parue dernièrement, nous avons montré [9] que l'eau douce avait une action stimulante sur l'iodovolatilisation. Dans certaines conditions, il est possible d'observer un complexe iodé labile dans l'eau de mer où ont séjourné des Laminaires vivantes.

Tout récemment, Kylin [15] a cherché de nouveau à

observer l'iodovolatilisation des Laminaires sur les côtes suédoises. Il constate toujours que ces Algues produisent de l'iode au contact d'un papier amidonné et ioduré, mais qu'elles n'en produisent pas trace au contact d'un papier amidonné et dépourvu d'iodures ou au contact d'empois d'amidon versé à la surface d'une *Laminaria* fraîche. Il n'observe pas d'iodovolatilisation sur des Laminaires qui étaient, d'après lui, aussi près que possible de leur état naturel. Cependant il constate l'existence d'une faible volatilisation d'iode sous l'influence de l'eau distillée, sous l'influence d'une faible acidité et après l'action ménagée du chloroforme. L'existence de l'iodovolatilisation, dans certaines circonstances et sous l'influence de certains facteurs, est donc pour lui démontrée, mais il n'a pas observé et il se refuse à admettre l'existence d'iodovolatilisation dans les conditions normales de la vie des Laminaires, tout au moins sur les côtes de Suède. Il pense que nous avons pu observer facilement l'iodovolatilisation en France, par suite de l'emploi de papiers-bristol acides et il attribue à l'acidité naturelle de ce papier les résultats positifs que nous avons obtenus dans la recherche d'une émission d'iode par les Laminaires [15].

D'autre part Kylin montre l'existence, dans la membrane extérieure des thalles de *Laminaria*, d'une oxydase agissant sur les iodures et il en tire l'énoncé du mécanisme probable de l'iodovolatilisation. Il répète nos expériences sur les coupes de thalles placées au contact de grains d'amidon et observées au microscope et il en déduit que l'iode prend naissance dans la membrane des cellules épidermiques et non dans les cellules épidermiques elles-mêmes, conclusion semblable à celle que nous avons formulée dans le même cas [15, p. 205].

Cette dernière publication de Kylin a motivé tout dernièrement de notre part un certain nombre de remarques [11]. Nous exprimons notre étonnement que ce savant veuille faire jouer un rôle capital à l'acidité du papier bris-

tol dans nos expériences, alors qu'il n'ignorait pas que cette acidité naturelle du bristol avait été notée par nous et rendue inopérante par lavage à l'eau de mer. D'autre part notre démonstration de l'iodovolatilisation repose avant tout sur des expériences de coloration d'un papier amidonné obtenues à distance d'un thalle vivant et intact, ce qui exclut toute influence de l'acidité sur les cellules iodogènes.

Nous pensons que Kylin a décrit sous le nom de « iodidspaltende Fähigkeit der Phäophyceen » une propriété des Laminaires qui est identique à celle que nous avons appelée l'« iodovolatilisation ». Kylin a observé, en effet, comme nous, que les Laminaires vivantes avaient le pouvoir de décomposer leurs propres iodures des tissus, de telle façon qu'elles émettent de l'iode mais, pour lui, le fait ne se produit pas dans les conditions normales de la vie des Laminaires, mais seulement sous l'action de certains facteurs d'ordre expérimental, tandis que nous pensons avoir démontré que l'iodovolatilisation des Laminaires est un phénomène normal dans l'existence de ces Algues, c'est-à-dire qu'il peut se produire sous l'influence de facteurs naturels et normaux.

Les résultats obtenus par Kylin ne sont valables que pour les algues de Suède ; cela ne fait aucun doute. Il est permis de penser, d'ailleurs, qu'un plus grand nombre d'expériences aurait conduit l'auteur à des conclusions très différentes de celles qu'il a formulées.

Tout récemment enfin [10] nous avons montré que les Laminaires en place étaient très sensibles aux actions extérieures, de sorte qu'il faut envisager des facteurs naturels et normaux tels que l'émersion ou le choc des vagues comme susceptibles d'influencer l'iodovolatilisation.

LES ÉCHANGES D'IODE ENTRE LES LAMINAIRES ET DIFFÉRENTS MILIEUX

Eau de mer.

Depuis longtemps nous cherchons à préciser la nature des échanges d'iode entre les Laminaires et le milieu marin. C'est évidemment dans les mouvements d'entrée ou de sortie de l'iode que réside l'intérêt principal et l'iodovolatilisation rentre elle-même dans le cadre très général des échanges de matière, c'est pourquoi, dès le début de nos recherches, nous avons envisagé l'iodovolatilisation comme une phase du cycle de l'iode.

Les buts poursuivis dans notre recherche ont été variés, mais ils ne s'appliquent malgré tout qu'à l'un des aspects du problème tel qu'il est envisagé plus haut. Nous avons cherché tout d'abord à mettre en évidence l'existence d'iode libre dans l'eau de mer ayant séjourné au contact de Laminaires vivantes et nous y sommes parvenu par différentes méthodes ; ensuite nous avons cherché, dans l'intention de préciser le mécanisme de l'iodovolatilisation, à reconnaître des oxydases, soit dans l'eau de mer au voisinage des Laminaires, soit dans la membrane extérieure des cellules iodogènes. Enfin nous avons porté notre attention sur l'absorption de l'iode, principalement sous forme d'iodures.

Notre objectif, comme précédemment, a été d'établir des faits nouveaux sévèrement contrôlés, sur les relations qui existent entre l'iode et certaines algues.

Emission d'iode libre dans l'eau de mer.

L'iodovolatilisation que l'on constate facilement dans l'air peut également être observée dans l'eau de mer sur

les Laminaires vivantes immergées, au moyen d'un papier amidonné que l'on place au contact du thalle. Nous n'insisterons pas sur ces faits que nous avons longuement exposés dans un Mémoire précédent.

La démonstration d'une émission d'iode libre dans l'eau de mer est sans aucun doute assurée par la simple expérience qui consiste à obtenir la coloration bleue de l'amidon au contact d'un thalle de Laminaire immergé.

Il y a bien sortie effective d'iode, mais il reste à décider si celle-ci peut avoir été provoquée par les conditions expérimentales elles-mêmes, et ce point devra être examiné dans un chapitre spécial.

Cependant il existe d'autres moyens de fournir la preuve que les Laminaires vivantes peuvent émettre de l'iode libre dans l'eau de mer. Il vient naturellement à l'esprit de chercher à recueillir l'iode libre produit dans l'eau de mer où auraient vécu des Laminaires un certain temps et de le caractériser par ses réactions. C'est ce que nous avons voulu réaliser depuis longtemps, avec un médiocre succès tout d'abord, parce que nous n'avions pas fait choix de conditions favorables [5, p. 200-201].

En premier lieu, dans les stations naturelles, l'eau de mer au voisinage des Laminaires ne nous a jamais révélé d'iode libre, comme il fallait s'y attendre. La méthode employée pour reconnaître l'iode libre ne nous permet pas de dépasser la précision du millionième et il est à prévoir que cette teneur n'est pas atteinte naturellement pour toutes sortes de raisons.

Il est donc nécessaire, à moins d'employer une méthode permettant d'identifier des teneurs en iode beaucoup plus faibles, de recourir à l'expérimentation sur des Laminaires détachées et comme il paraît peu pratique d'utiliser des Laminaires entières dans ce but, nous avons réalisé les expériences sur des stipes coupés, introduits aussitôt après dans des tubes de verre remplis d'eau de mer prise sur place.

Deux sortes de tubes ont été employés (fig. 1) : des tubes cylindriques ouverts aux deux bouts, ou des tubes en U dans lesquels les stipes flexibles peuvent être facilement introduits. Ces appareils très simples sont les mêmes que ceux qui nous ont servi précédemment, ils permettent de placer des thalles vivants de Laminaires en contact par leur épiderme intact avec une petite quantité d'eau de

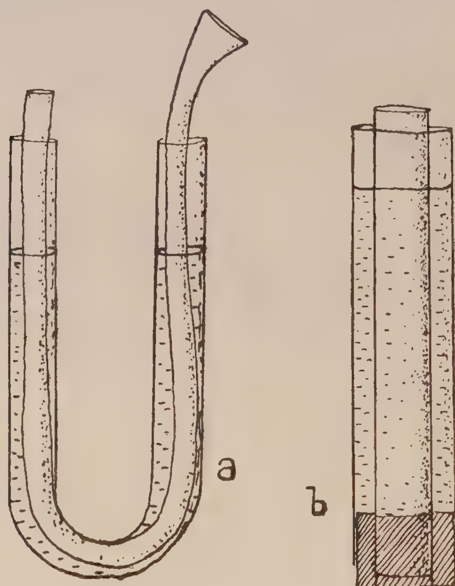


Fig. 1. — (*a*), Tube en U disposé pour une expérience sur les échanges entre un stipe de *L. flexicaulis* et divers milieux liquides ; (*b*), Expérience du même genre réalisée avec un dispositif différent (tube avec bouchon traversé par un stipe de *L. flexicaulis*).

mer sans que les surfaces sectionnées puissent venir troubler les résultats par la diffusion des iodures qui ne manquerait pas de se produire au niveau des cellules meurtries [5, p. 201, fig. 17].

Il est certain que, dans ces conditions et dans les premières minutes tout au moins, les échanges de l'algue avec le milieu sont comparables à ceux qui se produisent dans les conditions naturelles. Or jusqu'ici nous avions bien

signalé que, avec ce dispositif, dans l'eau de mer, de l'iode libre avait été reconnu à deux reprises différentes au bout d'un quart d'heure d'expérience, mais nous avions noté aussi les nombreux cas où il nous avait été impossible de trouver la moindre trace d'iode dans le liquide décanté.

Soupçonnant que la cause de ces échecs était due à ce que la quantité d'eau de mer dans les tubes dont nous nous servions était trop grande par rapport à la surface du thalle, nous avons utilisé des tubes à 2 ouvertures plus étroits et les résultats positifs dans la recherche de l'iode libre ont été immédiatement beaucoup plus fréquents. C'est ainsi qu'au Cap Griz-Nez le 29 juin nous avons observé deux cas très nets de sortie d'iode libre dans l'eau de mer.

Exp. 1. — Les stipes de *L. flexicaulis* qui avaient été recueillis environ cinq minutes auparavant et conservés dans l'air ont été placés dans des tubes à deux ouvertures remplis d'eau de mer. Au bout d'un quart d'heure dans un cas, de 20 minutes dans l'autre, de l'iode libre était très net dans le liquide décanté, après agitation avec deux gouttes de xylol. Trois autres expériences dans les mêmes conditions n'ont pas permis de constater d'iode libre. Le 30 juin nous observons encore deux cas de sortie d'iode libre dans l'eau de mer : l'un dans un tube à deux ouvertures, l'autre dans un tube à essai ordinaire étroit. La durée du séjour était de 20 minutes et les stipes étaient de jeunes exemplaires de couleur jaune, choisis parmi les plus gros ayant ce caractère. Tous les autres essais au nombre de huit étaient négatifs. Nous observons aussi que, à cette marée, les stipes âgés de couleur noir ou brun foncé ne colorent pas un papier amidonné sous l'eau, par contact, en une minute et souvent même non plus dans l'air au bout de ce temps. La région stipo-frondale elle-même ne donne souvent pas de coloration en une minute par contact dans l'eau et en une demi-minute par contact dans l'air. Il y avait donc en cette saison et en cette station une très faible volatilisation naturelle et seuls les stipes jeunes assez gros dégageaient de l'iode assez fortement par contact, même dans l'eau.

Deux autres résultats positifs ont été obtenus encore au Griz-Nez à cette époque ; puis à Roscoff, au Beclem, en septembre cinq expériences ont été réalisées avec succès,

quatre d'entre elles avec la partie supérieure des stipes de *L. Cloustoni* adultes et une cinquième avec le stipe de *L. flexicaulis.* Aux Têtes de Roche près de Roscoff, deux expériences sur *L. flexicaulis* et *L. Cloustoni* permettent d'observer de l'iode libre dans l'eau de mer après 1/4 d'heure de séjour au contact des thalles vivants. Nous ne parlons pas des résultats négatifs plus nombreux encore que les positifs, soit aux mêmes stations, soit en d'autres points (Rech'hier, Ile de Bas).

Enfin, dans des cas très rares, des Laminaires conservées en bac ont donné lieu à des expériences positives.

Le nombre d'expériences de ce genre ayant donné un résultat positif est assez grand pour qu'on puisse être certain du fait en lui-même. Il n'est donc pas douteux qu'au voisinage d'une Laminaire vivante immergée il peut y avoir production d'une petite quantité d'iode libre et maintenant, avant d'admettre que cet iode libre provient directement de l'algue il est nécessaire d'examiner une dernière éventualité.

L'eau de mer renferme en effet une certaine proportion d'iode, environ 2 mg. 5 par litre, suivant les analyses d'A. Gautier et cet iode se trouverait en partie à l'état soluble, et en partie fixé sur des particules organisées. On pourrait émettre la supposition que les Laminaires, dans les expériences relatées plus haut, ne dégagent pas effectivement de l'iode libre, mais qu'elles provoquent seulement la décomposition de l'iode combiné présent dans l'eau de mer qui les baigne. Cette hypothèse serait assez séduisante si la décomposition envisagée n'apparaissait pas comme très difficile à réaliser ; la forte coloration bleue qu'on obtient rapidement au contact d'une Laminaire immergée n'est guère compatible avec la faible teneur en iode de l'eau de mer. Ainsi, dans les tubes remplis d'eau de mer dont nous analysions le contenu après un séjour d'un quart d'heure au contact d'un thalle vivant, la proportion d'iode libre recueilli atteignait parfois 1/200.000

et même plus ; ce qui ne cadre guère avec la teneur en iode de l'eau de mer, telle qu'elle résulte des analyses connues : il faudrait admettre que ces analyses ont fourni un chiffre inférieur à la réalité.

Il faudrait également supposer, soit que les Laminaires émettent dans l'eau de mer un produit susceptible d'y libérer l'iode rapidement et complètement, soit qu'elles décomposent les combinaisons d'iode provenant de l'eau de mer après les avoir absorbées, tout au moins dans la membrane extérieure des thalles. La première supposition est tout à fait improbable ; la seconde hypothèse nous ramène à un énoncé de l'iodovolatilisation.

Il y a enfin un phénomène qui vient renforcer l'idée que nous soutenons d'une émission d'iode libre par les Laminaires immergées : il s'agit de l'apparition dans l'eau de mer, au voisinage d'un thalle vivant, dans les conditions où nous l'avons déjà signalé [9, p. 337] d'une certaine quantité d'iode libérable par un acide.

Iode acidilabile.

Les expériences qui ont permis de reconnaître cet iode combiné acidilabile ont été faites avec le même dispositif que les précédentes, mais elles s'appliquaient à des Laminaires rapportées depuis peu au laboratoire et non à des algues prises sur place. Ces expériences n'étaient pas faites, sur la côte, comme celles dont nous avons parlé plus haut et cela suffisait pour que les résultats obtenus fussent en général tout différents.

Nous avons réalisé un très grand nombre d'expériences de ce genre, soit après quelques heures de récolte, soit après plusieurs jours sur des algues conservées dans un bac à eau courante.

Exp. 2. — A Quiberon le 16 février 1930 sur un stipe frais de *Laminaria flexicaulis* récolté le 16, à 12 heures et mis en expérience à 14 h.

dans un tube à deux ouvertures dans l'eau de mer. Durée deux heures. L'eau décantée après l'expérience et agitée avec quelques gouttes de benzine ne renferme pas d'iode libre, mais après avoir ajouté deux ou trois gouttes de SO^4H^2 à 5 %, on observe après agitation qu'il se forme un ménisque coloré en violet. Après avoir ajouté deux gouttes de nitrite de soude et agité, on obtient une coloration légèrement plus forte du ménisque.

Il y avait donc dans l'eau de mer analysée une certaine quantité d'iode labile sous une forme inconnue, accompagnée d'une certaine proportion d'iodures.

Exp. 3. — A Port-Louis le 16 mars sur un stipe frais de *Laminaria flexicaulis* placé dans l'eau de mer à 11 h. 50 en tube à deux ouvertures. A 13 h. 50 l'eau de mer décantée ne contient pas d'iode libre ; après avoir traité par SO^4H^2 à 5 % on trouve un peu d'iode ; si on ajoute quelques gouttes de nitrite de soude la quantité d'iode n'augmente pas.

Cette expérience diffère de la précédente, dans son résultat, en ce sens que l'iode labile n'est pas accompagné d'une quantité appréciable d'iodures.

Exp. 4 à Wimereux le 31 mai. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté la veille est mis en expérience à 7 h. 25 dans l'eau de mer (tube à deux ouvertures) ; à 8 h. 25 l'eau de mer décantée ne renferme pas d'iode libre, mais contient de l'iode très nettement après agitation en présence de quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 %. La mise en liberté de l'iode peut même être obtenue par l'adjonction d'une certaine quantité (environ 2 cmc.) de SO^4H^2 à 1 %, mais la quantité d'iode mise en liberté est, dans ce cas moins forte.

Exp. 5 à Wimereux le 29 mai. — Un stipe frais de *L. flexicaulis*. récolté le 29 à 7 h. 30, conservé dans un bac d'eau courante est mis en expérience à 18 h. 20 ; à 19 h. 20 l'eau de mer renferme de l'iode après l'action de SO^4H^2 à 5 %. Le stipe est replacé dans l'eau de mer nouvelle et le lendemain à 6 h. il n'y a pas d'iode dans le liquide, ni après l'action de SO^4H^2 à 5 %, ni après l'action de cet acide additionné d'un peu de nitrite de soude.

Il n'y avait donc pas d'iodures dans l'eau de mer où avait séjourné plus de dix heures un stipe de *L. flexicaulis*.

Exp. 6 à Wimereux le 29 mai. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* récolté le matin est mis en expérience à 15 h. 5 dans l'eau de mer (tube à deux ouvertures). A 16 heures l'eau de mer décantée ne contient pas d'iode libre, mais après l'action de quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 % de l'iode apparaît ; un peu de nitrite ajouté ensuite n'en fait pas apparaître une plus grande quantité. L'eau de mer est renouvelée et l'on y recherche à certains intervalles la présence de l'iode, soit directement, soit après l'action d'un acide, soit après l'action d'un acide additionné de nitrite de soude, l'eau de mer analysée étant chaque fois remplacée par de l'eau de mer fraîche. Or, le même jour, à 17 h., à 18 h., à 19 h. et à 21 heures le résultat est négatif dans la recherche de l'iode. Le surlendemain à 7 heures résultat négatif également.

Ainsi un stipe coupé de *L. flexicaulis* placé dans l'eau de mer ne laisse pas diffuser d'iodures à l'extérieur, même au bout de 40 heures, par son épiderme intact.

Exp. 7 au Cap Gris-Nez le 27 juin. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le matin est mis en expérience dans l'eau de mer de 8 h. 30 à 9 heures (tube à deux ouvertures). Au bout de ce temps l'eau de mer ne contient pas d'iode libre, mais après agitation avec quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 % de l'iode apparaît. En continuant l'expérience après renouvellement de l'eau de mer, cet iode labile existe encore à 10 h., à 11 h. 30 ; à 14 h. 20 il n'y en a plus que des traces, mais l'adjonction de nitrite fait légèrement augmenter la quantité d'iode. Le lendemain 28 à 19 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, pas d'iodures. Le 29 à 18 h. 30 même résultat. L'expérience est terminée par une coloration vitale de l'assise épidermique au moyen du bleu de crésyl. Dans toutes les cellules apparaissent des bouquets de cristaux rouges sous l'action de ce colorant.

Cette expérience montre que l'épiderme intact d'une Laminaire ne laisse pas diffuser d'iodures au dehors dans l'eau de mer après plus de 48 heures. La perméabilité à l'iode existe au contraire au début du séjour en eau de mer d'autant plus qu'on se rapproche davantage des conditions naturelles.

Exp. 8 au Cap Gris-Nez le 28 juin. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le matin est mis en expérience dans l'eau de mer (tube à deux ouvertures) et, au bout d'un quart d'heure, il n'y a pas d'iode libre dans le liquide décanté, mais après agitation avec quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 % de l'iode libre apparaît.

Il suffit donc parfois d'un très court séjour dans l'eau de mer d'un stipe frais de *Laminaria* pour que de l'iode labile apparaisse.

Nous avons cherché à savoir si l'iode labile qui se montre ainsi était accompagné nécessairement d'iodures. A ce sujet les expériences précédentes avaient donné des résultats positifs (exp. 2 et 7) ou négatifs, mais la méthode employée n'est pas très précise, nous avons donc procédé autrement et recherché les iodures après décantation.

Exp. 9 à Roscoff le 11 octobre. — Un stipe de *L. flexicaulis* est mis en expérience dans l'eau de mer à 17 h. 20. A 19 heures le liquide analysé ne contient pas d'iode libre, mais par l'action de SO^4H^2 à 5 % de l'iode se montre. Il y avait donc ce que nous appelons de l'iode labile. On décante alors ce liquide au moyen d'une burette, de façon à recueillir une liqueur acidifiée, à peu près dépourvue d'iode libre comme on le constate après agitation avec quelques gouttes de benzine. En ajoutant alors un peu de nitrite de soude la quantité d'iode libre demeure à l'état de traces. L'iode labile n'était donc pas accompagné d'une quantité appréciable d'iodures.

Nous pourrions encore citer beaucoup d'expériences montrant que l'iode labile, observé au début du séjour des Laminaires dans l'eau de mer, n'est pas accompagné d'iodures, sinon à l'état de traces.

Exp. 10 à Roscoff le 27 septembre sur une *L. flexicaulis* récoltée la veille. — Le stipe coupé est mis en expérience dans l'eau de mer à 9 h. 7 ; à 9 h. 30 l'eau de mer décantée ne contient pas d'iode libre, mais une trace d'iode apparaît après agitation avec quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 %. Après avoir ajouté ensuite un peu de nitrite le résultat ne change pas, donc il n'y avait pas d'iodures en quantité appréciable.

A 10 h. 30, après renouvellement de l'eau de mer, le liquide d'expérience, décanté, ne renferme ni iode libre, ni iode labile, ni iodures.

Nous avons cherché à savoir si l'iode labile (c'est-à-dire ce complexe iodé de nature inconnue, qui libère de l'iode immédiatement sous l'action d'un acide et qu'on obtient dans les expériences précédentes) se conservait à la température de l'ébullition.

Exp. 11 à Roscoff le 10 septembre. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le 10 est mis en expérience dans l'eau de mer (dans un tube en U) à 10 h. 10 ; à 11 h. 15 une moitié de l'eau de mer décantée ne contient pas d'iode libre, mais elle renferme de l'iode labile très net ; après avoir porté à l'ébullition l'autre moitié du liquide, on y retrouve de l'iode labile aussi abondant que dans la partie qui n'avait pas été chauffée.

Exp. 12 à Roscoff le 10 septembre sur une *L. flexicaulis* récoltée la veille. — Le stipe est mis en expérience à 10 heures dans l'eau de mer ; à 10 h. 15 l'eau de mer décantée ne contient pas d'iode libre, mais il y a de l'iode labile. Après renouvellement de l'eau de mer, à 11 h. 10, le liquide est analysé à nouveau et on en fait deux parts égales ; l'une est agitée dans un tube avec quelques gouttes de benzine : après qu'on a ajouté un peu de SO^4H^2 à 5 % de l'iode apparaît ; la seconde moitié est portée à l'ébullition pendant quelques instants dans un tube à essai puis, après refroidissement, traitée comme la première : de l'iode se montre en quantité égale dans cette partie du liquide.

Le complexe iodé labile n'est donc pas détruit à l'ébullition, ce qui semble prouver qu'il n'a pas les caractères d'une association iodures-oxydases.

En prolongeant le séjour des Laminaires coupées dans l'eau de mer il arrive un moment où la membrane devient perméable aux iodures, c'est ce que montre l'expérience suivante :

Exp. 13 à Roscoff le 10 septembre sur une *L. flexicaulis* récoltée le même jour. — Le stipe est placé dans l'eau de mer à 10 h. 10, à l'intérieur d'un tube en U. L'eau de mer est analysée à certains intervalles. A 11 h. 15 pas d'iode libre, mais de l'iode labile très net ; à 13 heures

même résultat ; à 15 heures, pas d'iode libre, pas d'iode labile ; le 11 à 9 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, pas d'iodures ; le 14 à 16 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, un peu d'iodures ; le 16 à 11 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures.

Par conséquent les iodures commencent à se montrer au bout de quatre jours et ils sont abondants au bout de six jours. Cette perméabilité de l'épiderme aux iodures est évidemment un phénomène pathologique causé par le séjour dans l'eau de mer confinée. Elle apparaît d'autant plus rapidement que la température de l'eau est plus élevée. Elle apparaît immédiatement si les cellules épidermiques ont été tuées par l'éther.

Exp. 14 au Cap Gris-Nez le 27 juin. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le 27 est mis en expérience à 9 h. 10 dans l'eau de mer. Le liquide est analysé à certains intervalles de temps. A 11 h. 30 on n'y trouve pas d'iode libre, mais un peu d'iode labile par SO^4H^2 à 5% ; à 14 h. 30 pas d'iode libre, pas d'iode labile, pas d'iodures. On traite alors le stipe deux minutes par les vapeurs d'éther, puis on le place de nouveau dans l'eau de mer à 14 h. 35 ; or à 15 h. 40 l'analyse n'indique pas d'iode libre, pas d'iode labile, mais beaucoup d'iodures et les analyses suivantes indiquent des quantités croissantes d'iodures.

Un séjour suffisant dans les vapeurs d'éther tue les cellules épidermiques qui deviennent alors perméables aux iodures et les laissent passer dans l'eau de mer.

L'action de l'éther ou du chloroforme suffisamment prolongée, nuit, ou s'oppose complètement à la formation d'iode labile au début du séjour d'un stipe frais de *Laminaria* dans l'eau de mer.

Exp. 15 à Roscoff en septembre. — Un stipe de *L. flexicaulis* est mis en expérience à 10 h. 20 dans l'eau de mer après avoir été traité trois minutes par les vapeurs de chloroforme. A 11 h. 30 l'analyse de l'eau de mer n'indique pas d'iode libre, mais un peu d'iode labile et beaucoup d'iodures. Le stipe placé sur un papier amidonné au sortir du tube, le colore en bleu sur une partie de sa longueur. L'action du chloroforme

n'a donc pas été suffisante pour tuer les cellules épidermiques, dans certaines régions du stipe soustraites en partie à l'effet de l'anesthésique, c'est ce qui explique qu'il se soit formé un peu d'iode labile.

Les expériences poursuivies à différentes reprises nous ont donc permis de reconnaître que l'apparition d'un composé iodé dissociable par un acide seul était très général dans le cas où un fragment de stipe de *L. flexicaulis* fraîche est placé au contact d'une quantité limitée d'eau de mer qu'on analyse ensuite. Ce résultat peut être obtenu au bout d'un quart d'heure d'expérience et la quantité d'iode labile observée est d'autant plus grande que les Laminaires sont plus fraîchement recueillies.

Il est facile de s'assurer que cet iode labile ne peut pas être obtenu après l'action de l'éther ou du chloroforme sur les Laminaires, à condition que cette action soit suffisamment prolongée pour tuer les cellules épidermiques.

Le composé iodé labile obtenu dans les expériences précédentes peut être accompagné dans certains cas d'une petite quantité d'iodures ; c'est ainsi qu'après l'action de SO^4H^2 à 5 % la quantité d'iode libre peut augmenter légèrement par l'adjonction de nitrite de soude, mais bien souvent cette augmentation ne se produit pas, de sorte qu'on en peut conclure que la quantité d'iodure accompagnant le produit labile est très faible.

Nous avons déjà dit que nous considérions cette production d'iode labile comme une conséquence de l'iodovolatilisation : le moment est venu d'en donner les raisons.

Tout d'abord l'iode libérable par un acide ne s'observe que dans les premières heures de l'expérience en tube d'eau de mer. Il y en a toujours moins de formé au bout de trois ou quatre heures et, après douze ou vingt-quatre heures, il ne s'en produit plus la moindre trace. Cette production d'un complexe iodé labile est donc un phénomène qui s'atténue progressivement à la suite du séjour en

milieu confiné, même dans l'eau de mer renouvelée d'heure en heure, suivant une marche parallèle à la diminution de l'iodovolatilisation dans des conditions analogues.

D'autre part, cherchons à savoir par des expériences *in vitro* ce qui se passe lorsque de l'iode libre est mélangé à l'état très divisé à une certaine quantité d'eau de mer.

Exp. 16. — Pour cela broyons une parcelle d'iode dans un mortier où nous avons versé un peu d'eau de mer : nous obtenons un liquide faiblement coloré en jaune dans lequel l'iode libre est facile à caractériser ; il s'agit donc d'eau de mer iodée. Abandonnons vingt-quatre heures cette solution à l'air libre ; le liquide redevient clair et nous n'y trouvons plus trace d'iode après agitation avec quelques gouttes de benzine ou de chloroforme : l'iode libre a disparu, en partie évaporé, en partie combiné à l'intérieur de l'eau de mer, mais ce qui est intéressant, c'est que l'iode s'est, pour une grande part, combiné sous une forme décomposable par un acide dilué.

L'iode combiné ainsi obtenu n'est pas décomposé lorsqu'on porte à l'ébullition le liquide qui le renferme ; il ne paraît pas s'altérer à cette température, et il se conserve même après une ébullition prolongée (1 heure). Que représente ce corps ? c'est ce qu'il appartient aux chimistes de définir, mais il est très probable que ce composé résulte d'une fixation de l'iode sur la matière organique que renferme l'eau de mer (1) et nous avons pu nous en rendre compte en cherchant à obtenir ce composé dans de l'eau distillée, ou encore dans de l'eau de mer artificielle préparée avec des sels purs du commerce et dépourvue par suite de matière organique. Dans un cas comme dans l'autre nous n'avons vu se former que des traces infimes de composé iodé labile. Dans l'eau de mer artificielle il se produit sans doute une petite quantité d'iodures, car on obtient de l'iode libre par l'action d'un acide (SO^4H^2 à 5 %) additionné de nitrite de soude. Il est probable éga-

1. Cette idée s'est précisée dans notre esprit à la suite d'une conversation avec M. le Professeur Javillier.

lement que, dans l'eau de mer normale, le composé iodé labile est accompagné d'une trace d'iodure.

Il devient maintenant très vraisemblable que l'iode labile observé dans nos expériences en tube d'eau de mer au contact des Laminaires est dû à l'émission d'iode libre par ces algues ; il est facile, en effet, de concevoir que si l'émission est suffisamment intense, on observera de l'iode libre au bout de quelques minutes (accompagné ou non d'une quantité appréciable d'iode labile), sinon, au bout d'une heure ou deux seulement, on observera de l'iode labile provenant de l'iode libre émis lentement qui a été fixé par la matière organique de l'eau de mer.

Eau de mer artificielle.

En réalisant des expériences analogues aux précédentes, non plus dans l'eau de mer normale, mais dans l'eau de mer artificielle, nous avons eu pour but de priver les Laminaires de la petite quantité d'iode combiné qui existe normalement dans l'eau de mer, tout en leur fournissant un milieu très voisin de celui auquel elles sont adaptées. Nous avons donc fabriqué, avec de l'eau distillée et des sels purs, de l'eau de mer artificielle dont la composition est tirée de la formule donnée par Thoulet pour une eau de mer moyenne. Nous avons adopté les proportions suivantes pour un litre :

NaCl	27 gr. 3
MgCl	3 gr. 3
SO^4Mg	2 gr. 2
SO^4Ca	1 gr. 3
KCl	0 gr. 6
P^2O^4Ca	0 gr. 015
Total	34 gr. 715

En réalité cette formule simplifiée correspond à des teneurs en sels voisines sans doute de celles de l'eau de

mer à Roscoff ; c'est pourquoi un stipe frais de *L. flexicaulis* placé dans cette eau de mer artificielle se comporte à peu près comme dans l'eau de mer normale, au début tout au moins. Au bout d'un certain temps il se manifeste des signes d'altération qui ne se produisent pas aussi rapidement, toutes conditions égales d'ailleurs, dans l'eau de mer ordinaire. Ces perturbations sont minimes tout d'abord, mais elles sont facilement mises en évidence par la perméabilité aux iodures qui apparaît un peu plus vite que dans l'eau de mer ordinaire.

Examinons d'abord les cas rares où l'iode libre a été obtenu dans l'eau de mer artificielle.

Exp. 17 à Roscoff le 23 octobre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* a été mis en expérience à 11 h. 25 dans l'eau de mer artificielle ; à 12 heures le liquide renferme de l'iode labile, mais pas d'iode libre ; à 16 heures de l'iode libre s'observe très nettement.

Exp. 18 à Roscoff le 21 octobre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est placé dans l'eau de mer artificielle à 8 h. 20 ; à 9 h. 20 le liquide renferme de l'iode libre et le stipe, au sortir du tube, colore fortement en bleu un papier amidonné placé à son contact. L'expérience est continuée à 9 h. 30 ; à 11 h. 45 il y a encore de l'iode libre ; à 15 heures l'iode libre est à l'état de traces et, en ajoutant un peu de SO^4H^2 à 5 % la quantité d'iode augmente légèrement : il y a donc un peu d'iode labile.

Le plus souvent il ne se produit pas d'iode libre, mais seulement de l'iode labile.

Exp. 19 à Roscoff le 12 octobre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est mis en expérience à 17 h. 30 dans l'eau de mer artificielle ; le liquide est renouvelé à certains intervalles après avoir été analysé. A 17 h. 50, pas d'iode libre, un peu d'iode labile, pas d'iodures appréciables en supplément ; à 9 h. 15 le 13, pas d'iode libre, pas d'iode labile, un peu d'iodure ; à 21 heures le 14, pas d'iode libre, pas d'iode labile, pas d'iodures ; à 11 heures le 16, pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures.

Il y a donc, au bout de 4 jours, une perméabilité de l'épiderme aux iodures, ce qui n'a pas lieu en général aussi tôt

dans l'eau de mer normale. Cette perméabilité peut même apparaître plus tôt comme l'indique l'expérience suivante :

Exp. 20 à Roscoff le 10 septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est mis en expérience à 15 h. 47 dans l'eau de mer artificielle. Le 11 à 9 heures il y a déjà pas mal d'iodures et la quantité est encore plus forte le 12 à 17 h. 30. Ces iodures diffusés au dehors ne sont pas accompagnés d'iode libre, ni d'iode labile.

L'iode combiné décomposable par un acide dilué (iode labile), est-il accompagné d'iodures ? Pour le savoir nous avons fait l'expérience suivante :

Exp. 21 à Roscoff le 11 septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est mis en expérience à 17 h. 15 dans l'eau de mer artificielle. A 18 h. 45, pas d'iode libre, mais de l'iode labile très net ; après décantation le liquide restant ne donne pas la réaction des iodures. L'expérience est poursuivie et, le 12 à 9 h. 30, le liquide ne renferme ni iode libre, ni iode labile, ni iodure.

Dans l'eau de mer artificielle, comme dans l'eau de mer normale, c'est donc au début du séjour que l'iode libre ou plus souvent l'iode labile apparaît (1). L'iode labile n'est pas accompagné d'une quantité appréciable d'iodures. Les iodures se montrent au bout de plusieurs jours et leur diffusion au dehors résulte évidemment, à ce moment-là, d'un phénomène pathologique.

La production d'iode libre ou d'iode labile, sous l'influence des Laminaires vivantes, dans un milieu dépourvu par lui-même d'iode combiné, apporte la preuve que cet

1. D'après l'explication que nous avons donnée plus haut (p. 215) pour la formation de l'iode labile, ce genre de combinaison iodée ne devrait pas pouvoir apparaître dans l'eau de mer artificielle, puisqu'elle ne contient pas de matière organique. Il y a là évidemment une difficulté, mais il est fort possible que les Laminaires laissent diffuser au dehors une petite quantité d'une substance organique. De nouvelles recherches ne seront pas inutiles. En tout cas, dans l'eau distillée, l'iode labile ne se forme pas.

iode provient des tissus. Par analogie, nous pouvons avoir la certitude que les Laminaires, dans l'eau de mer naturelle, ne concentrent pas au niveau de la membrane extérieure, pour les décomposer avant qu'ils n'aient pénétré dans les cellules, les traces de composés iodés existant dans cette eau de mer, mais qu'elles volatilisent de l'iode aux dépens des iodures de leurs tissus. Toutefois il demeure bien entendu que les iodures des tissus tirent leur origine de l'eau de mer, les deux phénomènes sont concomitants.

L'influence des différents sels de l'eau de mer est mise en évidence par l'expérience suivante sur l'action d'une solution de sel marin pur.

Exp. 22 à Roscoff le 29 septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est placé à 16 heures dans une solution de sel marin à 36 ‰ dans l'eau distillée. La solution est analysée, puis renouvelée à différentes reprises A 16 h. 30 nous y observons de l'iode libre, pas d'iode labile, mais déjà beaucoup d'iodures ; à 18 h. 30 de l'iode libre s'observe ainsi que des iodures ; le lendemain à 9 heures le liquide ne renferme plus d'iode libre, mais contient toujours un peu d'iodures.

La perméabilité des cellules aux iodures se manifeste donc très vite dans une solution de sel marin sensiblement isotonique de l'eau de mer.

PRODUCTION D'OXYDASES AU CONTACT DES LAMINAIRES VIVANTES

Exp. 23. — Nous avons cherché à caractériser des oxydases dans l'eau de mer où avaient séjourné des Laminaires vivantes. Pour cela nous avons recueilli l'eau de mer qui était restée en contact un temps variable (1/4 d'h. à 1 h.) avec un stipe frais de *L. flexicaulis* et nous y avons ajouté une certaine dose d'une solution d'iodures à 1% ou à 5 %. Après agitation du mélange, tel quel, ou additionné de quelques gouttes de SO^4H^2 à 5 % nous n'avons jamais obtenu la mise en liberté immédiate d'iode libre. Il apparaît seulement une petite quantité d'iode lorsque l'eau de mer renferme déjà de l'iode labile. Il n'y a donc pas de décomposition rapide des iodures surajoutés comme cela devrait se produire s'il y avait eu émission d'oxydases dans l'eau de mer.

Eau douce.

C'est pendant un séjour au Cap Gris-Nez au mois de juin dernier que nous avons commencé des recherches systématiques sur l'influence de l'eau douce et de l'eau distillée sur les Laminaires.

Nous avions remarqué auparavant à plusieurs reprises que l'eau douce déterminait chez les Laminaires vivantes deux ordres de faits : 1° une sortie abondante et presque immédiate des iodures contenus dans les cellules ; 2° de l'iodovolatilisation à la surface des thalles traités par l'eau douce ou par l'eau distillée. Enfin, en mai à Wimereux nous avions observé la production d'iode libre dans l'eau douce où avait séjourné un stipe frais de *L. flexicaulis* [9, p. 337].

Au Gris-Nez, puis plus tard à Roscoff, nous avons réalisé de nombreuses expériences destinées à préciser le mode d'action de l'eau douce et de l'eau distillée. Pour cela nous avons utilisé des tubes à deux ouvertures, ou des tubes en U comme précédemment pour les expériences dans l'eau de mer.

Comme exemples nous décrirons quelques-unes de nos expériences prises parmi beaucoup d'autres.

Exp. 24 le 28 juin au Cap Gris-Nez. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est placé dans un tube d'eau douce ; au bout d'un quart d'heure l'eau douce décantée et agitée avec quelques gouttes de benzine contient de l'iode libre ; la quantité d'iode libre augmente certainement quand on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique à 5 % et elle augmente de nouveau et fortement lorsqu'on ajoute ensuite quelques gouttes de nitrite de soude. Le stipe, après l'expérience, et au sortir de l'eau douce, bleuit fortement un papier amidonné sur lequel on le place.

On peut déduire de cette expérience que l'apparition d'iode libre dans l'eau douce est due à une forte volatilisation par le stipe de Laminaire. En effet nous avons pu

nous assurer que les cellules étaient restées vivantes dans ces conditions. L'eau douce a donc, comme nous l'avons déjà fait remarquer [9] une action rapide et intense sur l'iodovolatilisation. Cette volatilisation provoquée par l'eau douce s'accompagne d'une sortie immédiate et assez importante d'iodures. Quant à la petite quantité d'iode libérable par un acide, elle a évidemment la même origine que celle que nous avons constatée dans l'eau de mer, c'est-à-dire qu'elle est due, vraisemblablement, à la combinaison de l'iode libre avec les composés organiques présents dans l'eau douce.

Nous avons également noté ce qui se passait lorsque l'action de l'eau douce était prolongée. Ainsi nous avons fait l'expérience suivante :

Exp. 25. — Un stipe de *L. flexicaulis* venant d'être récolté est placé à 11 heures dans l'eau douce. A 11 h. 15 le liquide décanté contient de l'iode libre, il est alors renouvelé et à 12 h. 30 analysé à nouveau, il montre la présence d'iode libre. Après renouvellement de l'eau douce l'analyse faite à 14 h. 15 n'indique plus cette fois d'iode libre, mais seulement des traces d'iode après traitement par SO^4H^2 à 5 % ; il existe aussi une quantité importante d'iodures. Le résultat est le même à 17 h. 30, sauf qu'il n'y a plus traces d'iode libérable par un acide. Dans les deux derniers essais, le stipe, placé sur un papier amidonné au sortir du tube d'eau douce, le bleuissait fortement.

Or à la fin de l'expérience le stipe est coloré vitalement par une solution de bleu de crésyl (dans l'eau de mer). Après un quart d'heure de séjour dans la solution presque toutes les cellules épidermiques contiennent un bouquet de fines aiguilles rouges ; quelques cellules n'en contiennent pas : sont-elles mortes ? Sur une autre partie du stipe qui n'avait pas été traitée par le bleu de crésyl on observe que l'assise iodogène ne réagit plus aux blessures, mais il se produit une légère émission d'iode si on humecte le stipe avec une solution d'iodure de potassium, Il est donc possible de conclure que les cellules de l'assise iodogène sont encore vivantes, quoique altérées sans doute assez fortement, après un séjour de plus de six heures dans l'eau douce.

Dans des expériences faites à Roscoff en septembre nous avons trouvé les mêmes résultats.

Exp. 26 à Roscoff le 11 septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* (récolté le 11 à 14 h.) est placé à 16 h. 15 dans l'eau douce. A 16 h. 35 le liquide contient de l'iode libre ; après décantation pour éliminer l'iode libre, le liquide renferme très peu d'iode libérable par un acide, mais il contient une quantité appréciable d'iodures.

Exp. 27 à Roscoff le 11 septembre. — Dans les mêmes conditions que précédemment, mais le stipe de *Laminaria* est traité au préalable deux minutes par les vapeurs d'éther puis placé dans l'eau douce à 16 h. 30. A 16 h. 50 le liquide ne contient pas d'iode libre, pas d'iode labile, mais beaucoup d'iodures.

L'action des vapeurs d'éther assez prolongée pour tuer les cellules épidermiques empêche la production d'iode libre et d'iode labile dans l'eau douce ; par contre elle accélère la sortie des iodures. L'apparition d'iode libre et d'iode labile dans l'eau douce dépend donc de la vitalité des cellules épidermiques ; il s'agit certainement de phénomènes d'iodovolatilisation.

La quantité d'iode libre qui apparaît dans l'eau douce peut être évaluée approximativement d'après la coloration de la benzine.

Exp. 28 à Roscoff le 26 septembre. — Un stipe frais est placé dans l'eau douce à 17 h. 7. A 17 h. 22 le liquide décanté contient environ 1 p. 100.000 d'iode libre. Cette quantité est accompagnée d'une trace d'iode labile et d'environ 1 p. 100.000 d'iodures.

On voit donc que l'eau douce a pour effet immédiat de produire une perméabilité de l'épiderme aux iodures ; en même temps se manifeste de l'iodovolatilisation.

Eau distillée.

L'eau distillée a une action analogue, mais non équivalente à celle de l'eau douce. C'est ainsi que dans plusieurs expériences nous n'avons pas observé d'iode libre après le séjour de stipes de *L. flexicaulis* dans l'eau distillée. Pourtant il se produit bien une volatilisation d'iode en

présence d'eau distillée, mais celle-ci n'est pas très intense et elle ne suffit pas en général pour faire apparaître dans le liquide qui a baigné les Laminaires une quantité appréciable d'iode libre.

Exp. 29. — Lorsqu'un stipe de *L. flexicaulis* est plongé quelques instants par une extrémité dans l'eau distillée, on constate en plaçant ensuite ce stipe sur un papier amidonné, que celui ci bleuit faiblement au contact de la région mouillée d'eau distillée. Avec l'eau douce, dans les mêmes conditions, le bleuissement est beaucoup plus marqué.

Dans l'eau distillée, comme dans l'eau douce, les Laminaires laissent passer des iodures assez rapidement. C'est ainsi, qu'après un séjour d'un quart d'heure dans l'eau distillée d'un stipe de *L. flexicaulis*, le liquide décanté contient des iodures faciles à reconnaître, mais, en règle générale, ces iodures ne sont pas accompagnés d'iode libre en quantité suffisante pour être reconnu par agitation avec quelques gouttes de benzine.

L'action de l'eau distillée sur l'iodovolatilisation a été reconnue récemment par Kylin qui a montré qu'un papier amidonné, préparé à l'eau distillée au lieu de l'être à l'eau de mer, se colorait parfois, assez lentement et faiblement en bleu au contact d'une fronde de *L. flexicaulis* [15, 1930, p. 203].

Voici quelques exemples d'expériences montrant quelle est l'action de l'eau distillée sur les Laminaires.

Exp. 30 à Roscoff le 12 septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* est mis en expérience à 17 h. 15 dans l'eau distillée (dans un tube en U). A 17 h. 30 le liquide décanté contient de l'iode libre et une proportion assez grande d'iodures ; à 9 h. 30 le 13, pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures ; à 9 heures le 14, même résultat.

Exp. 31 à Roscoff le 3 octobre. — Stipe frais de *L. flexicaulis* à 15 h.30 dans l'eau distillée, à 17 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures.

Exp. 32 au Cap Gris-Nez le 29 juin. — Stipe frais de L. *flexicaulis* placé à 18 h. 50 dans l'eau distillée. A 19 h. 5, pas d'iode libre, pas d'iode labile, un peu d'iodure.

Apparition d'un complexe iodé labile à la suite d'un séjour prolongé d'une Laminaire dans l'eau douce, dans l'eau distillée et dans l'eau de mer.

Lorsque l'action de l'eau douce ou de l'eau distillée est prolongée au delà de quelques heures, dans des expériences du même type que les précédentes, il peut apparaître, à un moment donné, un complexe iodé dont l'iode est facilement mis en liberté par un acide dilué.

Avant de donner le détail de nos expériences il convient de rappeler que nos recherches viennent ici rejoindre celles de divers chimistes qui se sont occupés récemment des propriétés et de la composition des extraits aqueux de Laminaires.

En 1929 [12] Th. Dillon a signalé que l'extrait aqueux obtenu avec la fronde fraîche des Laminaires avait le pouvoir, lorsqu'il était acidifié, de décomposer l'iodure de potassium de façon à mettre l'iode en liberté. La solution jouissant de cette propriété était obtenue facilement : les frondes de *Laminaria digitata* ou de *L. saccharina*, fraîchement recueillies sur la côte où elles avaient été rejetées par le flot, étaient hachées en menus morceaux, puis traitées par leur propre poids d'eau distillée contenant un peu de toluène (5 cmc. par litre) pour arrêter l'action des bactéries, et laissées reposer environ 24 heures. Le liquide était ensuite filtré, puis traité par un peu d'acide chlorhydrique ou d'acide acétique et additionné d'iodure de potassium ; de l'iode était observé par agitation avec du sulfure de carbone. L'auteur explique l'action observée par la présence dans la solution d'un « libérateur » qui serait un « corps organique dialysable ».

Les mêmes faits ont été observés peu après par H. D. Kay [13], puis par Lunde et Closs [16]. Ces derniers ont montré que de l'iode est libéré lorsqu'on acidifie l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* par des acides divers (sulfurique, chlorhydrique, nitrique et acétique). Le PH de l'extrait doit être abaissé au-dessous d'une certaine valeur pour que de l'iode soit libéré. Après évaporation jusqu'à siccité, puis dissolution à nouveau, la libération ne se produit plus par l'acidification. En ajoutant de la potasse à l'extrait, au cours de l'évaporation, le « libérateur » est préservé. Ce libérateur n'est pas une oxydase, comme il en a été observé dans le liquide cellulaire des Rhodophycées. Il n'est pas non plus formé par un iodate de potassium comme l'a suggéré H. D. Kay.

Dans un travail postérieur [17] les mêmes auteurs envisagent plusieurs hypothèses pour expliquer les faits précédents. Ils éliminent celles qui font intervenir des oxydases ; ils montrent qu'il existe deux principes associés dans l'extrait aqueux des Laminaires : à savoir une combinaison d'iode et un principe oxydant. La combinaison iodée est très vraisemblablement un iodure, quant au principe oxydant, sa nature est plus difficile à définir et les recherches se poursuivent.

Dernièrement H. Kylin [15], s'attaquant au même sujet, n'a pas réussi à confirmer les observations de Dillon ni celles de Lunde et Closs sur l'existence d'un « libérateur » dans l'extrait aqueux des Laminaires.

Dans nos expériences, nous avons obtenu un extrait aqueux de *Laminaria flexicaulis* par diffusion au contact d'un stipe de cette algue placé dans l'eau douce ou dans l'eau de mer. Notre méthode diffère donc de celle des chimistes précédents, mais elle conduit également à obtenir un liquide riche en iodures et présentant en outre, dans certains cas, les caractères d'un *complexe iodé acidilabile*.

Exp. 33 à Paris sur des *Laminaria flexicaulis* rapportés frais de Wimereux. — Le 1er juin un stipe de *L. flexicaulis* récolté le 31 mai à Wimereux est placé dans l'eau douce (dans un tube à deux ouvertures) à 15 h. 55. Le liquide est analysé à certains intervalles : à 16 h. 55, pas d'iode libre, pas d'iode labile (par S^4OH^2 5 % seul), beaucoup d'iodures (SO^4H^2 5 % + nitrite de soude). Le lendemain à 17 heures, pas d'iode libre, beaucoup d'iode labile, tellement qu'une goutte de SO^4H^2 à 5 % rend le liquide jaune sur le champ. Une partie de ce liquide qui n'avait pas été analysée est chauffée à l'ébullition et refroidie ensuite ; on constate alors qu'elle ne contient pas d'iode libre, mais qu'elle renferme toujours en abondance le composé labile. Le lendemain à 10 heures, le composé labile est encore abondant.

Exp. 34. — La même expérience que celle du paragraphe précédent est réalisée et le composé labile obtenu sert aux essais suivants : dans un tube à essai est versée une solution d'iodure de potassium à 1 % avec un peu de SO^4H^2 à 5 % et quelques gouttes de benzine ; après agitation, la benzine n'est pas colorée ; on ajoute alors quelques gouttes de la solution contenant le composé labile et, après agitation, la benzine apparaît colorée. Le même nombre de gouttes de solution du composé iodé labile étant ajouté à de l'eau ordinaire acidifiée, l'iode mis en liberté est en très petite quantité et colore la benzine plus faiblement que dans l'essai précédent ; on peut en déduire que le complexe iodé obtenu aux dépens des Laminaires contient un corps susceptible de décomposer les iodures en milieu acide.

Exp. 35 au Cap Gris-Nez le 30 juin 1930. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* récolté le matin est mis en expérience à 14 h. 45 dans l'eau douce (tube à deux ouvertures). A 15 h. 45 le liquide décanté ne contient pas d'iode libre, mais il contient un peu d'iode après agitation avec quelques gouttes de HCl à 5 % ; il existe de plus beaucoup d'iodures. Après renouvellement le liquide est analysé le lendemain à 9 h. 30 ; or il ne contient pas d'iode libre, mais, sous l'action de quelques gouttes de HCl à 5 % il brunit fortement par suite de la production immédiate d'une forte quantité d'iode libre. Le stipe de Laminaire, au sortir du tube d'expérience, est placé sur un papier amidonné qu'il bleuit fortement.

Exp. 36 du 27 juin au Cap Gris-Nez. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le matin est mis en expérience dans l'eau douce à 12 h. 40. A 13 h. 40, on contate la présence d'une trace d'iode libre, auquel s'ajoute un peu d'iode labile et beaucoup d'iodures ; à 15 h. 45 un peu d'iode libre ; à 17 h. 15 pas d'iode libre, trace d'iode labile, beaucoup d'io-

dures. Le lendemain à 18 heures, pas d'iode libre, beaucoup d'iode labile ; le lendemain à 7 heures pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures.

Dans cette expérience il s'est donc produit de l'iode labile après une trentaine d'heures de séjour dans l'eau douce et cet iode labile ne s'est plus formé douze heures après.

Exp. 37 du 2 juillet au Cap Gris-Nez. — Un stipe de *L. flexicaulis* récolté le 30 juin et conservé au frais est placé le 2 juillet à 9 h. 15 dans l'eau douce (tube à deux ouvertures). Le lendemain à 8 heures le liquide ne renferme pas d'iode libre, mais il contient une quantité importante d'iode labile : c'est ainsi que ce liquide brunit sous l'action de quelques gouttes de HCl à 5 %. D'autre part le stipe placé sur papier amidonné au sortir du tube d'expérience le bleuit fortement ; ce stipe a conservé sa couleur brune et, après coloration vitale au bleu de crésyl, il semble certain qu'il subsiste encore des îlots de cellules vivantes dans l'assise épidermique.

Une série d'expériences a été faite à Paris sur des stipes de *L. flexicaulis* récoltés au cap Gris-Nez le 1er juillet et rapportés à Paris le 3 juillet. Comme la production d'un complexe iodé labile se produit toujours à un moment où la perméabilité de l'épiderme aux iodures est très grande, il n'a pas paru nécessaire, dans ces expériences à Paris, d'éviter le contact entre les surfaces de section et le liquide d'expérience.

Exp. 38. — Des stipes de *L. flexicaulis* ont donc été placés dans des tubes à essai, le 3, à 18 heures de façon à réaliser trois expériences différentes.

a) Dans l'eau douce ;

b) Dans l'eau distillée ;

c) Dans l'eau de mer.

Le contenu des tubes a été analysé à différents intervalles dans le but d'y rechercher successivement l'iode libre, l'iode labile et enfin les iodures.

Les résultats ont été les suivants :

Le 4 juillet à 10 heures :

a) Pas d'iode libre, beaucoup d'iode labile sous l'action de quelques

gouttes de SO^4H^2 à 5 % (le liquide brunit fortement et immédiatement et la benzine rassemble une forte quantité d'iode).

b) Pas d'iode libre, beaucoup d'iode labile (la quantité paraît cependant un peu moins forte que dans le cas de l'eau douce).

c) Pas d'iode libre, pas d'iode labile, beaucoup d'iodures.

Les stipes placés en *a* et *b* donnent une forte coloration bleue lorsqu'on les place, au sortir des tubes à expérience, au contact de papiers amidonnés. L'expérience est continuée et le même jour à 16 heures on observe en *a* et *b* le même résultat que le matin ; en *c*, est apparu de l'iode labile très abondant. Le 6 juillet l'analyse donne les résultats suivants :

a) Pas d'iode libre, pas d'iode labile

b) Même résultat qu'en *a*

c) Pas d'iode libre, beaucoup d'iode labile.

Il s'est donc formé un complexe iodé labile très abondant dans l'eau douce, dans l'eau distillée et dans l'eau de mer ; ce complexe est apparu plus tard dans l'eau de mer que dans l'eau douce. Comment faut-il comprendre la composition de ce complexe ? Il ne peut s'agir d'iodures accompagnés d'oxydases, car toutes les propriétés se conservent après ébullition du liquide. Il est vraisemblable qu'on est en présence d'iodures et d'un corps oxydant analogue « au libérateur » signalé par Dillon dans l'eau où avaient macéré des Laminaires hachées. Nos observations sont donc de nature à confirmer les résultats obtenus par ce savant ainsi que par G. Lunde et K. Closs, sur la production aux dépens des Laminaires d'un « libérateur » et sur la nature non oxydasique de ce dernier.

Sur la composition de l'eau de mer qui a ruisselé à la surface d'une Laminaire fraîche.

Les Laminaires, lorsqu'elles sont immergées dans l'eau de mer, peuvent émettre de l'iode libre dans le milieu extérieur : c'est ce qui résulte des expériences exposées précédemment. Il n'est sans doute pas possible d'en réaliser de plus démonstratives, mais il est possible d'en imaginer de plus frappantes et de plus rapides qui conduisent

d'ailleurs à des résultats nouveaux comme nous allons voir.

Ces expériences consistent à recueillir l'eau de mer qui ruisselle à la surface d'une Laminaire, lorsqu'on retire celle-ci de l'eau. Rien n'est plus simple à réaliser : un pied de *L. flexicaulis* est coupé dans l'eau au-dessus des crampons et, au sortir de l'eau, ce pied est tenu, le stipe dans la main droite, l'extrémité de la fronde dans la main gauche qui rassemble les lanières. De cette façon, lorsqu'on rapproche les deux mains, l'eau qui mouille la plante s'écoule par le point le plus bas (situé vers l'intersection du stipe et de la fronde) en un filet rapide d'abord, puis en gouttes de plus en plus espacées. A partir du moment où les gouttes se forment assez lentement pour être facilement isolées les unes des autres, on les recueille sur des papiers amidonnés et, presque toujours, on observe le bleuissement immédiat de l'amidon : les gouttes qui ont ruisselé sur un thalle de *L. flexicaulis* vivant contiennent donc de l'iode libre. Dans certains cas ces gouttes ne contiennent pas d'I. libre, elles ne bleuissent pas l'amidon, mais elles colorent en bleu immédiatement un papier amidonné et ioduré : nous aurons à décider s'il s'agit dans ce cas de l'action d'une oxydase que renfermeraient les gouttes, ou simplement d'une sensibilité plus grande de l'amidon ioduré vis-à-vis de l'iode libre.

Voici le détail de quelques-unes des expériences au moyen de cette méthode :

Exp. 39 le 19 octobre. — *L. flexicaulis* recueillies à la faux la veille, conservées en bac ensuite.

Des papiers-filtre sont imbibés d'empois d'amidon préparé à l'eau de mer : trois d'entre eux servent aux expériences, l'un, tel quel (papier *a*) l'autre mouillé d'une solution d'iodure de K à 1 % dans l'eau de mer (papier *b*), l'autre mouillé d'iodures comme le précédent auxquels s'ajoutent quelques gouttes d'acide sulfurique à 5 % (papier *c*).

Un pied de *L. flexicaulis* (A) récolté la veille et conservé en bac, comprenant la moitié de la fronde et la moitié du stipe fournit les gouttes.

Au moment où celles-ci se forment à deux ou trois secondes d'intervalle l'une de l'autre, on les laisse tomber successivement sur les papiers *a*, *b* et *c*. On observe que chaque goutte bleuit *instantanément et fortement* l'empois et la coloration est aussi intense en *a*, *b* et *c*. Le pied de *L. flexicaulis* est replacé dans la cuvette à eau courante. Quelques minutes plus tard l'expérience est renouvelée et donne le même résultat.

Dans cette expérience la présence d'iode est décelée dans les gouttes ; mais il n'est pas possible de reconnaître une influence spéciale de l'amidon ioduré, ou de l'amidon ioduré et acidifié.

Exp. 40 le 20 octobre. — A. Expérience sur le même pied de *L. flexicaulis* que la veille.

1° Trois gouttes successives sont recueillies qui bleuissent instantanément des papiers *a*, *b*, *c* préparés comme dans l'expérience précédente avec de nouvel empois et de nouvel iodure. Il est impossible de distinguer entre ces trois papiers au point de vue du bleuissement.

2° Cette Laminaire est replacée dans la cuvette d'eau courante ; une demi-heure après on la prend et on recueille les gouttes dans un petit tube à essai ; 15 gouttes environ sont recueillies. Le liquide est agité aussitôt avec deux gouttes de benzine et, après agitation, un ménisque violet-rose se rassemble au-dessus qui indique la présence d'iode libre.

3° Le pied de Laminaire est replacé dans la cuvette ; un quart d'heure après, les gouttes en provenant sont recueillies comme précédemment dans un petit tube ; on agite avec la benzine qui ne se colore pas au sommet du tube. Par conséquent il n'y a plus d'iode libre.

B. — Expérience sur un autre pied (B) de *L. flexicaulis* provenant de la même récolte et conservé dans un bac à eau courante. L'effet des gouttes est essayé sur trois papiers de types *a*, *b*, *c*. On observe en *a* un faible bleuissement, en *b* et *c* un bleuissement nettement plus fort.

C. — Expériences sur place à Bloscon (Roscoff), par une marée de 12. Il a plu un peu, juste avant la basse mer. Les expériences sont faites, la pluie ayant complètement cessé, sur des Laminaires qui n'avaient pas émergé durant la pluie. Nous observons trois cas sur des papiers de type *a*, *b* et *c*.

1° En *a*, *b* et *c* pas de bleuissement ;

2° En *a*, pas de bleuissement ; en *b* et *c* bleuissement.

3° En *a*, *b* et *c*, bleuissement, mais celui-ci est légèrement plus marqué

en *b* (en *c*, à la grande lumière, l'empois prenait assez rapidement une teinte violacée ce qui nuisait à la comparaison des résultats de *b* et de *c*).

Exp. 41 le 21 octobre. — Expériences sur le pied de *L. flexicaulis* (B). A. — 1° Les gouttes sont recueillies dans un tube à essai et nous obtenons ainsi 10 cmc de liquide qui est agité avec deux gouttes de benzine ; nous obtenons un méni·que coloré en rose : donc le liquide renfermait de l'iode libre.

Nous ajoutons ensuite quelques gouttes d'une solution d'iodure de potassium à 1 % ; après agitation la coloration rose, loin d'être renforcée a presque disparu.

2° Ce pied de Laminaire a été replacé dans le bac à eau courante aussitôt après l'expérience. Environ dix minutes après, nous recueillons à nouveau les gouttes dans un tube à essai et nous agitons avec de la benzine : il ne se produit pas de coloration rose, donc il n'y a pas d'iode libre ; après avoir ajouté de l'iodure à 1 % de façon à doubler le volume total du liquide et après avoir agité de nouveau, nous n'observons pas d'iode libre : il n'y avait donc pas d'oxydases reconnaissables dans les gouttes recueillies.

3° Le même pied est replacé dans l'eau de mer courante.

a) Au bout d'une demi-heure environ, les gouttes sont recueillies sur des papiers amidonnés non iodurés (*a*), iodurés (*b*) et iodurés acidifiés(*c*), suivant la même technique que précédemment, mais, au lieu d'un seul papier amidonné sans iodures, nous en disposons deux que nous appellerons a_1 et a_2, de telle sorte que quatre gouttes successives sont recueillies en a_1, *b*, *c*, puis a_2 ; de cette façon les gouttes reçues en *b* et *c*, sont intercalées entre celles qui sont reçues en a_1 et a_2.

Nous n'observons aucun bleuissement en a_1 et a_2, tandis que les papiers *b* et *c* bleuissent aussitôt que les gouttes les atteignent. Les gouttes n° 1 et n° 4 ne renfermaient donc pas d'iode libre, ou plus exactement n'en renfermaient pas suffisamment pour colorer le papier simplement amidonné ; les gouttes n° 2 et n° 3 qui sont intercalées entre celles-ci ont vraisemblablement la même composition qu'elles ; puisqu'elles bleuissent le papier amidonné et ioduré c'est donc qu'elles contiennent un produit capable de mettre en liberté de l'iode aux dépens des iodures, ou bien, que l'amidon ioduré est plus sensible à l'iode libre que l'amidon non ioduré.

b) En recueillant d'autres séries de gouttes, plus tardives et par conséquent plus espacées les unes des autres, sur les mêmes papiers, nous en observons finalement quelques-unes qui provoquent le bleuissement des papiers a_1 et a_2 ; elles renferment donc de l'iode libre, alors que les

précédentes n'en contenaient pas, ou plutôt n'en contenaient que des traces insuffisantes pour colorer l'amidon.

4° La même Laminaire replacée dans l'eau courante est sortie à nouveau de l'eau au bout d'un quart d'heure. Nous recueillons les gouttes et nous obtenons environ 10 cmc. de liquide dans lequel il n'est pas possible de déceler de l'iode, ni directement, ni après l'action de l'acide sulfurique à 5 % , ni après l'action de l'acide sulfurique à 5 % additionné de nitrite de soude. Il n'y avait donc ni iode, ni iodure, ni composé labile dans le liquide recueilli.

B. — D'autres pieds de *Lamin. flexicaulis* du même bac fournissent les gouttes. Celles-ci colorent en bleu sans distinction les papiers de type *a*, *b* et *c*.

C. — Observations sur place á Rech'hier (Roscoff).

Plusieurs averses tombent immédiatement avant la marée basse et pendant la marée basse. Pendant une éclaircie, nous faisons une expérience avec les gouttes recueillies sur des papiers-filtre imbibés d'empois frais (préparé le matin même).

Nous allons chercher des *L. flexicaulis* en très bon état, immergées sous 20 ou 30 cm. d'eau et n'ayant pas émergé durant cette basse mer. Nous coupons rapidement le stipe et environ la moitié de la fronde, ou bien nous laissons la fronde entière. Aussitôt après la sortie de l'eau, ces *Laminaria* sont mises à égoutter et, lorsque les gouttes sont assez espacées, nous les recevons sur l'empois : chaque goutte en tombant donne lieu à un bleuissement immédiat.

Par conséquent l'eau qui ruisselle sur les *L. flexicaulis* fraîches au moment de la récolte, contient de l'iode libre.

D. — Expériences sur des *L. flexicaulis* récoltées à Rech'hier et conservées quelques heures dans un bac à eau courante.

Les gouttes recueillies au sortir de l'eau bleuissent avec la même intensité les papiers amidonnés *a*, *b* et *c*. Plusieurs séries de gouttes sont ainsi éprouvées, mais nous observons que les dernières gouttes, celles qui sont les plus espacées, bleuissent plus fortement l'empois : elles sont donc plus riches en iode que les premières qui s'écoulent.

E. — Nous observons avec des *L. flexicaulis* récoltées l'avant-veille que les gouttes bleuissent sensiblement de la même façon les papiers sans iodure et les papiers iodurés, mais seules les gouttes qui tombent les dernières sont très riches en iode.

F. — Expériences sur le pied de *L. flexicaulis* A (qui a déjà donné lieu aux expériences du 19 et 20 octobre ; voir plus haut). Cette Laminaire retirée de l'eau fournit quatre gouttes successives qui colorent toutes également les papiers a_1, b, c, a_2. Nous replaçons cette Laminaire dans l'eau courante et, quelques minutes après, nous la reprenons et constatons alors qu'aucune des gouttes ne bleuit le papier simplement amidonné. Les dernières gouttes même ne produisent pas de coloration, mais elles bleuissent instantanément un papier amidonné et ioduré.

Il est à noter qu'une *L. flexicaulis* dont on a extrait une quantité d'iode importante la première fois qu'on la sort de l'eau, ne donne presque plus d'iode quand on reproduit le même essai quelques minutes plus tard. Appauvrie en iode, cette Laminaire replacée dans l'eau de mer n'a plus le temps de reformer sa provision et elle ne volatilise plus, ou elle volatilise très peu seulement, lorsqu'on la sort de l'eau très souvent.

Exp. 42 le 22 octobre. — Expériences sur place au Beclem (Roscoff) ; A. — Marée basse à 11 h. 30. Il n'y a pas de pluie dans la matinée avant que les Laminaires découvrent et pas de pluie non plus pendant la marée de 10 h. 45 à 12 h. 45.

Les gouttes sont recueillies sur diverses *L. flexicaulis* prises dans des conditions variées. Les résultats obtenus sur des papiers imbibés d'empois, iodurés ou non, peuvent se résumer ainsi :

1° Coloration identique, forte et immédiate de l'empois d'amidon ioduré ou non (cas le plus fréquent).

2° Coloration faible de l'empois non ioduré, plus forte de l'empois ioduré.

3° Pas de coloration de l'empois dans aucun cas.

B. — Expériences sur les gouttes recueillies avec le pied de *L. flexicaulis* (B) (voir les expériences du 20 et du 21 octobre).

1° A 8 heures les gouttes sont recueillies dans un tube à essai et agitées avec deux gouttes de benzine. Nous observons la présence d'iode libre.

2° A 16 h. 15 les gouttes sont recueillies sur quatre papiers a_1, b, c, a_2. Seuls les papiers b et c bleuissent ; il n'y a aucune coloration sur les papiers simplement amidonnés a_1 et a_2.

Au contraire une *L. flexicaulis* récoltée la veille fournit des gouttes qui bleuissent indifféremment les quatre papiers.

C. — Expériences sur le pied de *L. flexicaulis* A (voir les expériences des 19 et 20 octobre et l'expérience F du 21 octobre).

A 16 h. 30 cette Laminaire, au sortir de l'eau, donne des gouttes qui bleuissent instantanément a_1, b, c, a_2.

A 17 h. 30 et à 19 h. 45 après séjour dans l'eau courante pendant les intervalles, le même résultat que précédemment est obtenu.

Exp. 43 le 23 octobre. — Expériences sur le pied de *L. flexicaulis* A (voir précédemment) après chaque essai la Laminaire est replacée dans l'eau courante.

1° A 8 h. 30 les gouttes recueillies bleuissent des papiers amidonnés seulement (a), donc il y a de l'iode libre dans les gouttes.

2° A 8 h. 45 les gouttes bleuissent les papiers b et c, mais nullement a_1 et a_2, d'autre part le papier c (ioduré et acidifié) est un peu plus coloré que le papier b (ioduré seulement).

3° A 9 h. 45 les gouttes recueillies bleuissent les papiers b et c, mais nullement a_1 et a_2 : nous avons donc le même résultat que précédemment à 8 h. 45. A 9 h. 50, sur le papier a_1 qui vient de recevoir une goutte d'eau de mer s'écoulant de la *Laminaria* et qui n'a pas bleui, nous ajoutons une goutte d'iodure à 1 % et il n'y a pas bleuissement ; sur le papier a_2 nous ajoutons de l'iodure avec une goutte d'acide sulfurique à 5 % et nous n'observons pas de coloration bleue.

Les gouttes recueillies renfermaient donc tout d'abord de l'iode libre (exp. 1) ; l'expérience 2 pourrait signifier que les gouttes contiennent des oxydases, mais l'expérience 3 n'est pas favorable à cette hypothèse, car il est assez invraisemblable que des oxydases se détruisent ou perdent leurs propriétés en quelques minutes.

4° A 14 h. 45 les gouttes recueillies colorent en bleu immédiatement les papiers a_1, b, c et a_2 ; donc ces gouttes renferment de l'iode. Il a donc suffi d'un séjour de cinq heures dans l'eau de mer courante, pour que l'iode libre puisse être observée à nouveau dans les gouttes.

Il résulte des expériences dont nous venons d'exposer le détail que l'eau de mer qui s'écoule de la surface d'une Laminaire vivante, au moment de l'émersion, contient de l'iode libre. Ces expériences, confirment donc, sous une forme particulièrement frappante, l'existence d'iodovolatilisation chez les Laminaires, car l'iode libre observé provient nécessairement des iodures des tissus qui sont décomposés par le jeu des cellules vivantes. D'autre part les conditions de ces expériences sont aussi voisines que pos-

sible des conditions normales et par conséquent il est certain que les Laminaires émettent de l'iode libre normalement et cet iode peut être recueilli, dosé et analysé.

Plusieurs de nos expériences (exp. 41, 40) montrent que l'eau qui ruisselle à la surface des Laminaires ne contient pas d'iodures. Dans les conditions où nous avons opéré, il pourrait se faire qu'une petite quantité d'iodures soit entraînée au voisinage de quelque lésion ou coupure du thalle, car il n'est pas possible de certifier qu'un pied complet de Laminaire est totalement dépourvu de lésions, quel que soit le soin qu'on apporte à les éviter. L'expérience montre cependant que les iodures qui peuvent être entraînés ainsi ne sont pas reconnaissables dans une analyse et qu'il n'y a pas lieu par conséquent d'en tenir compte.

L'eau qui ruisselle à la surface des Laminaires fraîches est donc de l'eau de mer plus ou moins riche en iode libre, mais dépourvue pratiquement d'iodures.

Il arrive qu'une goutte de cette eau ne colore pas l'empois d'amidon, mais qu'elle colore l'empois additionné d'iodure (exp. 43, 2°) : le fait est dû, d'après nous, non à la présence d'une oxydase dans les gouttes, mais à la sensibilité plus grande de l'empois d'amidon ioduré pour l'iode libre.

Exp. 44. — Pour appuyer cette opinion, nous avons fabriqué artificiellement de l'eau iodée et, pour une certaine teneur en iode, nous avons observé qu'une goutte de cette eau iodée tombant sur de l'empois d'amidon ioduré ou non, le bleuissait aussitôt ; pour une teneur un peu moins forte en iode, une goutte d'eau iodée ne colorait plus ni l'empois d'amidon ordinaire ni l'empois ioduré ; pour une teneur intermédiaire seul l'empois ioduré se colorait sur le-champ en bleu. Ces résultats rendent compte parfaitement de ce qui se passe dans les expériences sur les Laminaires.

Nous croyons donc qu'il faut éliminer jusqu'à nouvel ordre cette idée, que l'eau qui a ruisselé à la surface des Laminaires fraîches contient des oxydases. Les oxydases, s'il

y en a, ne diffusent donc pas en dehors des cellules vivantes comme Kylin l'a soutenu [14, p. 78] dans son premier travail.

Un fait particulièrement intéressant c'est que le pouvoir d'émettre l'iode libre s'affaiblit chez les Laminaires à la suite d'une ou de plusieurs émersions ; mais la faculté iodogène reparaît lorsque les Laminaires ont séjourné un temps suffisant dans l'eau de mer renouvelée. Tout se passe comme si une Laminaire immergée avait le pouvoir de rétablir son taux d'iode des tissus, abaissé à la suite de l'émersion ; or elle ne peut le rétablir qu'en empruntant de l'iode à l'eau de mer.

Sur la présence d'iode, d'iodures et d'oxydases dans la membrane extérieure des thalles de Laminaires (Méthode par grattage).

L'analyse du mécanisme de l'iodovolatilisation nous avait déjà permis d'affirmer que l'iode libre apparaissait au niveau de la membrane des cellules épidermiques (cellules iodogènes) [5, p. 153], et le rôle important de la membrane dans ce phénomène avait été soupçonné par nous lorsque nous écrivions : « ce qui paraît le plus remarquable, c'est l'épaisse membrane limitante extérieure qui doit jouer un rôle important » [5, p. 155]. Plus tard, envisageant la participation d'une oxydase à ce phénomène, nous avons indiqué les conditions dans lesquelles ces oxydases devaient agir : « il devient nécessaire que les iodures (qui existent certainement dans les cellules épidermiques) et les oxydases (qui existent d'une façon possible dans ces mêmes cellules) se rencontrent dans les cellules épidermiques elles-mêmes ou tout au moins dans l'épaisseur de la membrane de revêtement. » [8, p. 58].

Il était réservé à Kylin de vérifier, par une expérience remarquable, la justesse de nos prévisions.

Si l'on enlève par grattage les cellules épidermiques d'une fronde de Laminaire et qu'on place le produit ainsi enlevé sur un papier amidonné, il ne se produit pas de coloration bleue (Kylin, 15, 1930, p. 206), mais si on enlève de cette façon, seulement la partie la plus extérieure de la membrane, et qu'on la dépose sur un papier amidonné et ioduré il se produit une coloration bleue. Kylin en déduit que la membrane des cellules périphériques chez les Laminaires fraîches contient un corps oxydant. Plus loin (p. 207) il identifie ce corps à une oxydase.

Dans le but de rechercher la présence d'oxydases dans la membrane et de déterminer les caractères et les conditions dans lesquelles se forment et agissent ces oxydases, nous avons réalisé les expériences suivantes :

Exp. 45 le 16 octobre à 10 heures. — Un thalle de *L. flexicaulis* conservé dans un bac à eau courante depuis peu est sorti de l'eau, essuyé rapidement dans un linge neuf. Sur la surface de la fronde on passe avec précaution, à plusieurs reprises, une lame de rasoir, de façon à enlever seulement un peu de *matière blanche d'aspect cireux* provenant de la région la plus extérieure de la membrane des cellules épidermiques.

Cette sorte de purée, qui adhère au rasoir, est portée sur un papier amidonné où elle détermine aussitôt un trait bleu, discontinu et assez faible. Il y avait donc de l'iode libre dans cette purée, où il s'en est produit.

Or, avant le grattage de la fronde, celle-ci ne bleuissait pas un papier amidonné au contact en 30 secondes. Après grattage, la même région donnait en 30 secondes, sur un papier amidonné au contact une coloration bleue en forme de taches irrégulières exclusivement sur l'emplacement gratté.

Le grattage de la membrane a donc déterminé une volatilisation d'iode, là où il n'y en avait pas auparavant. Cette volatilisation a eu lieu, bien qu'une partie de la membrane extérieure des cellules épidermiques ait été enlevée et précisément là où elle a été enlevée. La volatilisation n'exige donc pas l'intégrité de la membrane dont la partie extérieure, par suite, ne joue pas un rôle nécessaire.

Quant à la coloration bleue produite sur papier amidonné par le produit de grattage, elle peut être expliquée de plusieurs façons :

1° Le grattage a provoqué la sortie d'iodures et d'oxydases qui ont imbibé la membrane des cellules épidermiques et, comme le rasoir a passé à plusieurs reprises sur le même point, il a emmené avec lui des iodures et des oxydases qui, placés sur papier amidonné, ont donné naissance à de l'iode libre ;

2° Le grattage a provoqué la sortie d'iode libre qui s'est accumulé dans la membrane : le produit de grattage contient donc de l'iode libre.

3° Le grattage a provoqué à la fois une sortie d'iodures et d'oxydases et une production d'iode libre (hypothèse la plus vraisemblable).

Exp. 46. — De toutes façons, étant donné qu'on ne peut pas savoir laquelle de ces trois explications il faut adopter, cette expérience seule ne peut pas démontrer que la membrane des Laminaires renferme des oxydases, mais laissons la coloration bleue obtenue avec le produit de grattage dans l'expérience précédente s'évanouir et ajoutons alors une goutte de KI à 1 %, il y a apparition d'une ligne bleue faible qui se montre en un point du trait différent de celui où la coloration était apparue auparavant. Il ne s'agit donc pas d'une rénovation de la coloration précédente, mais d'une décomposition de l'iodure ajouté.

Cette deuxième expérience s'ajoutant à la première permet d'assurer que c'est l'hypothèse 1 ou 3 qu'il faut admettre et de préférence l'hypothèse 3. Nous avons donc démontré que, sous l'influence d'un grattage de la membrane, des iodures et des oxydases sont émis par les cellules épidermiques, que la membrane s'en imprègne, en même temps que de l'iode libre apparaît.

Remarque importante : la présence d'oxydases est démontrée dans la membrane, mais seulement après un traumatisme ; nous pouvons supposer il est vrai, par analogie, que la volatilisation normale est conditionnée également

par la présence d'iodures et d'oxydases à l'intérieur de la membrane, où les cellules vivantes les laisseraient passer dans certaines conditions, qui font partie de la vie normale, mais qui restent à préciser.

On peut se proposer d'analyser de plus près le rôle de la membrane par la même méthode. Pour obtenir une plus grande précision il est possible de recueillir, au moyen d'une lame de rasoir, des produits de grattage pris de plus en plus profondément et de les disposer sous forme de traits parallèles sur un papier amidonné. De cette façon il est facile de s'assurer, comme nous le verrons, que les produits de grattage provenant de la membrane n'ont pas les mêmes propriétés suivant le niveau auquel ils ont été obtenus.

Pour rendre les expériences autant que possible comparables, nous avons réalisé les essais sous forme de séries de trois types différents A, B et C.

Nous avons, par exemple, dans la série A passé le rasoir cinq fois sur le même emplacement et obtenu un trait n° 1 formé par les produits de grattage qui avaient adhéré au rasoir après cette opération. Le trait n° 2 est obtenu encore après cinq passages successifs sur le même emplacement, le n° 3 après dix passages s'ajoutant toujours aux précédents et ainsi de suite.

Exp. 47. — Voici les résultats obtenus avec une série de ce genre déposée sur un papier amidonné : traits 1, 2, 3 pas de coloration ; trait 4, coloration bleue ; traits 5, 6, 7 pas de coloration. A partir des traits 6 ou 7, les produits ramenés par le rasoir changent d'aspect ; ils sont surtout formés de liquide et adhèrent mal au rasoir. Lorsque, après les essais précédents, on mouille les traits avec un peu de KI à 1 %, on observe que les traits 1, 2, 3, 4 et au maximum 5, bleuissent aussitôt ; tous les autres restent incolores.

Exp. 48. — Nous avons étudié la série B composée comme l'indique le tableau où les chiffres de la colonne de droite représentent le nombre des passages et les chiffres de la colonne de gauche les numéros d'ordre et nous avons obtenu par exemple le résultat suivant :

1	1	Pas de coloration directement ; coloration bleue sous l'action de KI à 1 %.
2	2	Pas de coloration directement ; coloration bleue sous l'action de KI à 1 %.
3	5	Coloration bleue directement ; coloration plus forte après le KI à 1 %.
4	10	Coloration bleue directement ; coloration plus forte après le KI à 1 %.
5	20	Coloration bleue directement ; coloration plus forte après le KI à 1 %.
6	20	Pas de coloration directement ni après l'action du KI à 1 %.
7	20	Pas de coloration directement ni après l'action du KI à 1 %.

On observe que, après les traits 3 et 4, la région de la fronde qui a subi les grattages colore en bleu un papier

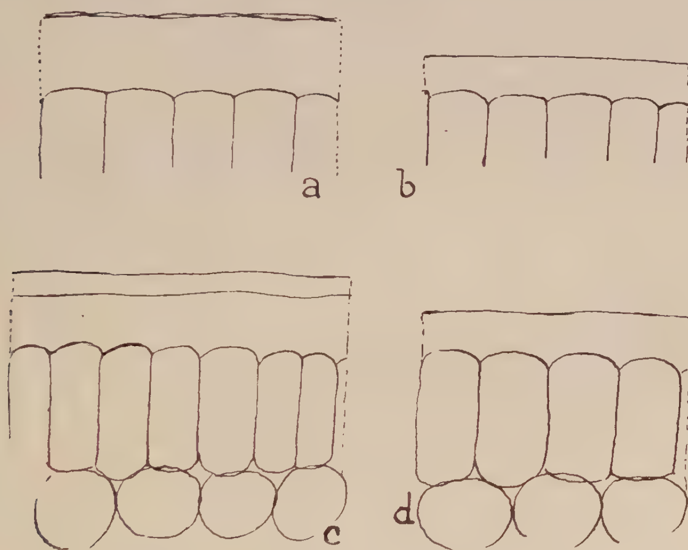


Fig. 2. — (*a*), Portion d'une coupe transversale de l'épiderme et de la membrane extérieure de *L. flexicaulis* (lame) ; (*b*), Portion d'une coupe analogue après plusieurs raclages successifs ayant enlevé la partie extérieure de la membrane ; (*c*), Coupe de la partie extérieure du thalle chez le *L. flexicaulis* où la membrane paraît formée de deux parties distinctes (lame) ; (*d*), Coupe analogue après plusieurs grattages ayant enlevé la partie extérieure de la membrane.

amidonné qu'on place au contact. Cette région volatilise donc sous l'influence du traumatisme. A partir de 6 et 7, seul le pourtour de la région traumatisée volatilise, les cellules sont donc atteintes dans leur vitalité. Cependant après 6 et 7, les grattages n'ont enlevé qu'une partie de la membrane, environ la moitié de son épaisseur (fig. 2), comme

le démontre une coupe transversale de cette région; à partir du moment où l'on atteint la partie profonde de la membrane, la vitalité des cellules situées au-dessous est détruite.

Exp. 49. — Dans d'autres cas nous avons fait une série du type C qui nous a donné les résultats suivants :

1	5	Pas de coloration directement ; pas de coloration après avoir mouillé le papier avec SO_4H_2 à 5 % + nitrite.
2	10	
3	20	Coloration bleue intense et immédiate ; un peu plus forte après l'action de SO_4H_2 5 %.
4	20	
5	20	Pas de coloration directement ; mais coloration bleue par l'action de SO_4H_2 à 5 %.
6	20	

De ce tableau et du précédent, il résulte que les premiers produits de grattage contiennent des oxydases, mais ne contiennent pas d'iodures. Le traumatisme qu'ils déterminent provoque de l'iodovolatilisation. Les produits ultérieurs contiennent donc de l'iode et sans doute aussi des oxydases et des iodures Plus profondément les produits de grattage contiennent l'iode sous une forme telle qu'un acide seul le met en liberté.

Nous donnons ci-dessous quelques autres essais du type C sous forme de tableaux (exp. 50).

1, 2, 3	Pas de bleuissement direct ; pas de coloration par SO_4H_2 à 5 % ; pas de coloration par SO_4H_2 5 % + nitrite.
4, 5, 6	Bleuissement direct intense ; la coloration s'accentue légèrement par SO_4H_2 5 %.
7, 8, 9	Bleuissement direct faible ; la coloration s'accentue légèrement par SO_4H_2 5 %.
10, 11. 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19	Pas de bleuissement direct ; coloration bleue plus ou moins forte par SO_4H_2 5 % ; l'adjonction de nitrite accentue la coloration, tout d'abord.
20, 21	Pas de bleuissement direct, pas de bleuissement par SO_4H_2 5 % ; l'adjonction de nitrite détermine une coloration bleue.

Il faut noter que, dans cette série, les grattages ont été effectués avec beaucoup de précautions et sur une partie de la fronde à membrane très épaisse (bas de lame), de sorte que c'est seulement à partir des traits 17 et 18 à peu près, que les cellules commencent à être atteintes, ce qu'on voit au changement d'aspect de la surface qui commence à s'érailler par places et au fait que le produit recueilli, d'abord incolore, devient jaune-brun, preuve qu'on a atteint la couche pigmentée.

Naturellement, malgré toutes les précautions, le grattage n'est pas homogène, c'est-à-dire que le centre de la région grattée s'use plus vite que les bords, de sorte que le rasoir enlève, d'un même coup, des régions de la membrane situées à des profondeurs différentes ; c'est ainsi que, pour donner un exemple, dans la série précédente, en 10, 11 ,12 la partie centrale des traits ne bleuit pas le papier amidonné directement, tandis que les bords donnent lieu à une faible coloration. Ces petites inégalités n'enlèvent rien à la marche d'ensemble de l'expérience.

Nous avons fait beaucoup d'autres expériences analogues aux précédentes dont nous ne donnerons pas le détail. Notons simplement quelques particularités rencontrées.

1° Le premier produit d'un grattage est toujours celui qui renferme le plus d'oxydases ; il est très rare qu'il contienne de l'iode libre.

2° Le premier grattage, même s'il est léger, peut déterminer une émission d'iode par le tissu sous-jacent. Il en résulte que les produits recueillis ensuite contiendront souvent de l'iode libre.

3° A partir du moment où les produits de grattage ne colorent plus directement le papier amidonné, la vitalité des cellules est atteinte. Les cellules sont lésées, elles ne se colorent plus vitalement et cependant, à ce stade, elles n'ont pas été atteintes directement par le rasoir qui n'a enlevé que la moitié extérieure de la membrane.

4º Il y a deux parties différentes dans la membrane, importantes à considérer : l'une extérieure qui s'enlève facilement et dont la perte ne compromet pas immédiatement la vie des cellules, l'autre plus résistante qu'on ne peut essayer d'enlever sans désorganiser le protoplasme sous-jacent (fig. 2, p. 239).

Cherchons maintenant quelle explication peut être donnée pour l'ensemble des faits observés. Nous n'en voyons qu'une qui soit satisfaisante et que nous résumerons ainsi.

a) Au début le produit enlevé par le rasoir contient à la fois oxydases + acide, mais pas d'iodures (donc, pas de coloration directe d'un papier amidonné, mais coloration d'un papier amidonné et ioduré).

b) Le rasoir enlève ensuite à la fois oxydases + acide + iodures (donc coloration directe d'un papier amidonné).

c) Plus profondément on trouve oxydases + iodures mais pas d'acide (donc coloration lorsqu'on ajoute un acide).

d) Enfin lorsqu'on atteint le protoplasme des cellules tout se passe comme s'il n'y avait plus que des iodures. S'il y a des oxydases, leurs propriétés sont inhibées (Il y a seulement coloration de l'amidon par l'action d'un acide additionné de nitrite de soude).

Nous avons cherché à vérifier directement que les premiers produits de grattage de la membrane avaient une réaction acide.

Exp. 51. — Sur un papier de tournesol bleu disposons une série de produits obtenus suivant le type C défini plus haut. Il est facile de noter que le premier trait provoque une empreinte rose très marquée, que les suivants se comportent de même mais d'une façon de moins en moins nette de telle sorte que le trait nº 7 rosit à peine le tournesol ; c'est à ce niveau que, dans cet essai, le corps cellulaire commençait à être atteint.

Il est possible maintenant de se faire une idée assez précise du mécanisme de l'iodovolatilisation. Au moment

où l'émission d'iode se produit, la membrane externe des cellules épidermiques contient à la fois des iodures, et des oxydases et présente une réaction acide très marquée. Ce sont là trois conditions qui expliquent la décomposition des iodures et la production d'iode libre ; il s'y ajoute, comme nous le savons [7, p. 131] l'oxygène de l'air.

Il semble que les oxydases existent en tout temps dans la membrane, ainsi qu'une forte acidité (1). Les iodures au contraire ne pénètrent dans la membrane que sous l'influence d'une excitation (traumatisme, anesthésiques, agents chimiques, etc.) ou encore, dans l'iodovolatilisation normale, sous l'influence de causes internes ou extérieures faisant partie des conditions de vie normale des Laminaires. Les cellules épidermiques sont très riches en iodures ; nous avons montré [5, p. 192] qu'elles en contenaient au moins 0,5 % et peut-être beaucoup plus. Il suffit d'une influence très minime pour que ces cellules laissent diffuser à l'extérieur des iodures qui imbiberont la membrane extérieure et seront décomposés aussitôt sous l'influence des oxydases agissant en milieu acide. Il se produira donc aussitôt de l'iode libre, c'est-à-dire que nous aurons de l'iodovolatilisation ; en même temps de l'oxygène sera consommé, car l'oxygène représente un autre facteur qui est indispensable aussi à l'iodovolatilisation comme nous l'avons montré précédemment.

A la suite d'expériences analogues aux nôtres, mais moins complètes, Kylin a conclu que trois facteurs étaient en première ligne nécessaires pour l'iodovolatilisation : des iodures, des oxydases et de l'oxygène. Il faut ajouter ce fait important que les oxydases agissent en milieu acide comme nous venons de le montrer.

Jusqu'ici nous avons admis, pour la commodité du langage, que le principe oxydant rencontré dans la mem-

1. Cette présence constante d'oxydases et d'acide à l'intérieur de la membrane est due évidemment à une sécrétion des cellules épidermiques ; celle-ci cesse avec la mort des cellules.

brane extérieure des cellules épidermiques de *Laminaria flexicaulis* et jouissant de la propriété de décomposer les iodures en milieu acide était une oxydase.

Exp. 52. — Pour nous rendre compte si ce principe est de la nature des enzymes nous l'avons soumis à l'action de la chaleur et nous avons observé que ce principe n'est pas détruit après avoir été porté pendant cinq minutes à la température de 85° dans l'intérieur d'une étuve dont l'eau bouillait. Ce produit est détruit après avoir été porté une minute à la température de 100°. Ce dernier résultat est conforme à celui obtenu par Kylin.

D'après Kylin le principe oxydant reconnu dans la membrane extérieure des Laminaires serait certainement une oxydase. Nous ne pensons pas, quant à nous, que le fait soit rigoureusement démontré, mais il y a tout avantage à employer ce mot d'oxydase qui déjà par lui-même est assez vague et recouvre assez d'inconnu pour s'appliquer au corps en question.

Nous pouvons ainsi nous représenter l'iodovolatilisation des Laminaires sous une forme schématique et assez séduisante. La possibilité de la volatilisation est liée à la possibilité pour les iodures de sortir en dehors des cellules vivantes. Kylin fait remarquer avec beaucoup de justesse que le problème de l'iodovolatilisation est transformé ainsi en un problème de perméabilité. La formule est très heureuse mais, d'une part, elle ne supprime pas les difficultés, d'autre part elle a l'inconvénient de vouloir trop simplifier.

Or le problème est plus complexe. En effet il ne suffit pas que les iodures aient la faculté de diffuser en dehors des cellules pour qu'une volatilisation d'iode se produise, il faut aussi que les cellules soient encore vivantes. Si l'on tue par le chloroforme les cellules épidermiques il y a bien diffusion des iodures au dehors, mais l'iodovolatilisation ne se produit plus, c'est comme si l'on avait tué les oxydases qui existaient auparavant dans la membrane. Lorsque les cellules épidermiques ont été tuées par le

chloroforme, il n'est plus possible de recueillir par grattage des oxydases dans la membrane. L'iodovolatilisation, qu'elle soit naturelle ou provoquée, est donc sous la dépendance des cellules épidermiques vivantes formant ce que nous avons appelé l'*assise iodogène.* L'iodovolatilisation dépend donc non seulement de la perméabilité des cellules iodogènes aux iodures, mais encore de la présence d'oxydases et cette dernière condition paraît, jusqu'ici, être liée étroitement à la vie des cellules.

INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS SUR L'IODOVOLATILISATION.

Les iodures étant abondants dans les tissus d'une Laminaire, il s'ensuit que toute coupure fraîche du thalle en est fortement imprégnée et que, si cette région coupée est appliquée au contact de l'épiderme d'un autre thalle vivant, il va se produire un renforcement de l'iodovolatilisation comme dans le cas où une solution artificielle d'iodures vient mouiller la surface d'une lame de *Laminaria.*

Exp. 53. — L'expérience suivante montre qu'il en est bien ainsi : une coupe fraîche d'un stipe est appliquée sur une fronde de *L. flexicaulis* et laissée ainsi quelques instants. La coupe est ensuite enlevée et un papier amidonné placé en contact avec la fronde ; on constate alors que seul l'emplacement où se trouvait la coupe a coloré le papier. Ceci montre qu'on peut iodurer un thalle avec les propres iodures d'une Laminaire et obtenir une émission d'iode par ce moyen. Le fait que les cellules d'une Laminaire contiennent bien des iodures se trouve par là même confirmé.

Or nous avons montré [2, 3, 5, p. 156] et le fait a été confirmé par Kylin [14, 1929, p. 79], que les bords des blessures ou des coupures de thalle étaient le siège d'une émission d'iode. Il paraît donc naturel d'admettre que ce sont les iodures sortis en petite quantité au niveau des traumatismes qui activent l'iodovolatilisation des cellules

voisines. Kylin n'a pas manqué de l'admettre et, maintenant il est bien prouvé par notre dernière expérience que cette possibilité existe.

Il y a lieu de rechercher cependant si l'excitation mécanique des cellules iodogènes, dans le cas d'un traumatisme, aboutissant à une émission d'iode renforcée, peut être séparée de l'action spéciale due à la sortie des iodures au dehors.

Or il apparaît tout d'abord assez difficile de réaliser une excitation par traumatisme, sans provoquer une sortie apparente d'iodures. En effet, même une contusion qui ne détermine pas de coupure dans le tégument, amène d'ordinaire, si elle est suffisamment énergique, une petite sortie de liquide des tissus et ce liquide est vraisemblablement riche en iodures. Or une contusion ou une forte et brusque compression en un point donné d'un thalle provoque bien, comme nous l'avons observé plusieurs fois, une émission d'iode au point attaqué, mais le fait se produit seulement si la contusion est assez forte pour être accompagnée d'un léger suintement de liquide : par conséquent il n'est pas possible dans ce cas d'attribuer à une excitation mécanique pure et simple l'émission d'iode qui résulte d'une contusion.

Il faut des expériences plus délicates pour se faire une idée juste à ce sujet et nous avons cherché de la façon suivante à analyser de plus près le rôle des traumatismes.

Exp. 54. — A. — En appuyant légèrement le tranchant d'un rasoir bien affilé sur un stipe frais de *L. flexicaulis* et en l'y laissant reposer un instant par son seul poids, on observe qu'il se fait une ligne en dépression qui persiste, mais les cellules épidermiques ne sont pas entamées ; on le constate au microscope : il s'est formé une ligne, correspondant à une largeur de trois ou quatre cellules, qui est la région touchée par le tranchant. Il n'y a pas discontinuité dans l'assise épidermique et la cuticule elle-même, si elle est fendue, ne le laisse pas apercevoir. Il n'y a pas trace d'une sortie d'un liquide quelconque, ni à l'œil nu, ni après examen microscopique.

Les trois ou quatre rangées de cellules atteintes ont un aspect parti-

culier dû à la contraction du protoplasme. Sont-elles encore vivantes ? Une coloration vitale au bleu de crésyl nous a permis de colorer certaines d'entre elles.

En regard de stries obtenues ainsi, lorsqu'on place un papier amidonné à leur contact, se forment de fines lignes bleues, mais il s'agit dans le cas présent d'une seule trace bleue par strie et non de deux lignes colorées séparées par un espace clair comme pour les stries qui entament l'épiderme.

Nous avons donc, avec cette expérience, un cas très intéressant de traumatisme qui détermine de l'iodovolatilisation sans effusion d'iodures au dehors.

Exp. 55. — Souvent d'ailleurs, même lorsque l'épiderme est entamé, il n'y a pas de sortie de liquide sur les bords de la blessure et pourtant on observe deux lignes bleues d'un quart de millimètre de largeur, très régulières, séparées par une ligne claire de même épaisseur ou un peu plus large. Dans un cas semblable, ce qui agit, ce ne sont pas les iodures sortis au dehors sur l'emplacement des cellules mortes, mais les iodures que les cellules vivantes voisines ont laissé passer dans la membrane où ils ont été décomposés. Cette sortie d'iodures dans la membrane n'a pas été constatée ; on suppose son existence, parce que tel l'exige le mécanisme probable de l'iodovolatilisation.

En tous cas, il paraît démontré que l'action spéciale des traumatismes et en particulier des coupures du thalle sur l'iodovolatilisation, existe indépendemment de l'action des iodures qui peuvent être épanchés au dehors au niveau des blessures.

En dehors des traumatismes par coupures ou par contusion, une émission d'iode renforcée peut être observée avec des agents physiques et chimiques très divers, (chaleur, acides, alcool, anesthésiques) à condition que l'action de ces facteurs soit ménagée et qu'elle soit arrêtée avant qu'elle ne tue les cellules. Ce sont là des faits que nous avons signalés dès 1928.

Aujourd'hui, d'après ce que nous savons du mécanisme probable de l'iodovolatilisation, l'influence de ces divers facteurs pourrait être ramenée à une action sur la per-

méabilité des cellules aux iodures. Ces facteurs si divers stimuleraient donc l'iodovolatilisation, où la détermineraient là où elle n'existe pas, parce qu'ils modifient la perméabilité cellulaire de telle sorte que les iodures sortent dans la membrane où ils sont décomposés.

Il faut se représenter les cellules iodogènes comme des éléments d'une grande sensibilité, qui répondent aux excitations les plus variées, suivant un mode toujours le même qui est la production d'iode libre aux dépens des iodures qu'elles contiennent à haute dose. Que cette émission puisse être représentée par deux phases, dont l'une est la sortie des iodures dans la membrane et l'autre la décomposition de ces iodures à ce niveau, cela ne change rien à l'ensemble du phénomène qui peut être pris, ainsi que nous l'avons montré déjà [5, p. 253] comme type d'une action réflexe.

Comme le nombre des facteurs qui peuvent influer sur l'iodovolatilisation est certainement considérable et qu'un petit nombre seulement a fait l'objet d'observations précises, un vaste champ de recherches est encore ouvert dans cette direction. Dernièrement Kylin a précisé l'action des acides que nous avions signalée antérieurement, il a vérifié que le chloroforme à petites doses provoquait une émission d'iode, ce qui confirme nos observations antérieures ; enfin il a montré l'influence de l'eau distillée. Peu de temps auparavant nous avions présenté une communication où se trouve décrite l'influence de l'eau douce sur les Laminaires [9]. Dans le cas de blessures, de coupures du thalle, Kylin a signalé, comme nous l'avions déjà fait, l'émission d'iode qui se produit à leur niveau et il a considéré ce fait comme étant dû à la sortie des iodures en dehors des cellules lésées. Il n'a pas distingué, comme nous l'avons fait dans les pages antérieures, cette action et l'excitation mécanique proprement dite sans sortie d'iodures au dehors.

Au cours d'un récent séjour à la Station Biologique de

Roscoff nous avons cherché à étendre ce chapitre de l'iodo-volatilisation et nous avons pour cela employé deux méthodes. La première consiste à faire agir sur le thalle de Laminaire le facteur considéré, puis à porter immédiatement après un papier amidonné au contact de cette région. Si ce papier bleuit en regard de la zone excitée, alors qu'il reste incolore en face des régions voisines, c'est que le facteur en question a provoqué une volatilisation d'iode. Cette méthode est celle qui nous a déjà servi dans nos recherches précédentes. Voyons ce qu'elle donne dans le cas du facteur température. Nous examinerons ensuite les résultats obtenus avec la seconde méthode.

Action des températures élevées.

Nous avions montré précédemment qu'une température élevée agissant sur une Laminaire sous forme d'eau de mer chauffée avait une action importante sur l'iodovolatilisation : ainsi une température d'environ 55° agissant pendant 30 secondes supprime complètement l'iodovolatilisation par suite de la désorganisation de l'épiderme, mais une température un peu moins élevée et agissant moins longtemps détermine une sorte d'excitation de l'assise iodogène se traduisant par une émission d'iode assez forte.

Comment agissent les températures élevées ? Afin de savoir si leur action est accompagnée d'une sortie d'iodures au dehors nous avons opéré ainsi qu'il suit.

Un thermomètre ordinaire est porté à une température de 80° ou 70° par exemple, puis la cuvette du thermomètre est placée au contact d'un thalle frais de *L. flexicaulis*, préalablement essuyé dans des papiers buvards, de façon à présenter une surface non mouillée. Les deux températures extrêmes, entre lesquelles a eu lieu le contact, sont notées ainsi que la durée du contact.

Exp. 56. — Si la cuvette du thermomètre est placée sur le thalle sans appuyer, on observe, après l'expérience, qu'il n'y a eu aucune sortie de liquide ; si l'on a opéré à une température élevée, par exemple entre 80° et 70°, il reste seulement une trace de brûlure correspondant à la zone où les cellules ont été altérées. Si on maintient le contact en appuyant, il y a généralement un peu de liquide qui se montre dans cette région.

Nous avons obtenu les résultats suivants avec le thermomètre placé sur le thalle sans appuyer, par conséquent sans déterminer de sortie de liquide :

Températures	Durée	Résultat
90°-80°	4 sec.	excitation sur les bords de la région brûlée.
80°-70°	6 à 7 sec.	*Id.*
70°-60°	10 sec.	excitation sur toute la région brûlée.
60°-50°	20 sec.	parfois pas d'excitation, assez souvent faible excitation.
55°-45°		pas d'excitation.

Pour obtenir le tableau précédent on a placé sur le thalle de Laminaire un papier amidonné qui bleuit en face des régions dont l'iodovolatilisation a été excitée. On notera que les températures de 90° à 70° tuent les cellules, de sorte que l'émission d'iode se produit seulement autour de la région brûlée. Entre 70° et 60° et plus bas, la zone de contact toute entière émet de l'iode. Cette région peut être colorée par le bleu de crésyl ; elle se distingue alors par un mélange de cellules vivantes normales colorées vitalement (dépourvues cependant en général d'aiguilles rouges) et de cellules surcolorées, sans doute plus ou moins altérées ; on trouve dans ces dernières des vacuoles bleues ou violettes et des granulations rouges assez nombreuses, les plastes n'ont pas leurs contours aussi nets que dans les cellules normales ; il y a aussi de très rares cellules mortes à contenu contracté et colorées en verdâtre. Lorsque les expériences précédentes sont faites en appuyant, il peut y avoir excitation entre 60° et 50° et même entre

55° et 45°, mais nous n'avons pas provoqué de volatilisation entre 50° et 40°.

Il ressort des expériences précédentes qu'une température élevée, agissant de façon à tuer les cellules épidermiques, ne détermine pas d'émission d'iode, tandis qu'entre 50° et 70° environ il peut se produire de l'iodovolatilisation provoquée, avec une durée d'action convenable. Ces chiffres concordent avec ceux que nous avions obtenus précédemment par une autre méthode, mais comme nous opérions alors dans des conditions qui permettaient de faire agir plus longuement et plus directement la température considérée, nous avions obtenu une excitation de l'iodovolatilisation même au-dessous de 50° [5, p. 167].

Il est à noter que la chaleur détermine de l'iodovolatilisation sans qu'il y ait sortie d'iodures au dehors, mais sans doute y a-t-il sortie d'iodures au niveau de la membrane. Entre 70° et 80° les conditions semblent devoir être les mêmes qu'entre 60° et 70° en ce qui concerne les iodures et les oxydases qui ne sont certainement pas détruites à cette température. Cependant il ne se produit pas d'iodovolatilisation, parce que les cellules iodogènes sont détruites.

Excitation des algues mouillées d'empois d'amidon.

La deuxième méthode pour noter l'influence des divers facteurs susceptibles d'agir sur l'iodovolatilisation consiste à revêtir la fronde d'une Laminaire d'une mince couche d'empois d'amidon fraîchement préparé, de telle sorte que l'émission d'iode provoquée se manifeste immédiatement par la coloration de l'empois sur la fronde examinée au besoin par transparence.

Exp. 57. à Roscoff (octobre). — Sur un pied de *L. flexicaulis*, une heure après la récolte, on verse et on fait couler en couche mince, sur une certaine étendue de la fronde, de l'empois d'amidon fraîchement préparé

(et froid naturellement). Au bout de quelques instants des taches fortement colorées, paraissant noires, se montrent assez irrégulièrement réparties à la surface du thalle. Là où il n'y a pas formation de ces taches noires, il y a peut-être une émission d'iode tout de même, mais certainement très faible. L'action des facteurs excitant l'iodovolatilisation est essayée sur ces régions du thalle où l'empois d'amidon n'est pas coloré.

Nous avons obtenu de l'iodovolatilisation provoquée :

1° Avec les stries et coupures de thalle qui s'entourent d'une ligne colorée, et ce phénomène est, pour ainsi dire, instantané.

2° Avec un corps chaud (cuvette de thermomètre chauffée par exemple).

3° Avec un corps froid, telle qu'une coupelle de verre mince dans laquelle on a versé quelques gouttes d'éther et qui repose sur un point de la fronde, le tout étant placé dans un courant d'air pour activer l'évaporation. Il se produit un bleuissement de l'empois sur l'emplacement touché par la coupelle (1).

4° Avec l'alcool à 70°, la région où l'on place la goutte d'alcool reste incolore ; la diffusion de l'alcool tout autour donne lieu à une zone bleue qui s'étend en largeur.

5° Avec le formol à 40 %, il se forme un très mince liseré bleu autour de la goutte dont l'emplacement reste incolore. A la longue, il se forme tout autour une zone qui bleuit : c'est dû aux vapeurs de formol qui se propagent à une certaine distance.

6° Avec des sels divers à l'état de cristaux placés sur la fronde, NaCl, KCl, SO^4Ca, il se produit, au fur et à mesure de la dissolution, une zone bleue qui s'étale peu à peu. Cette action des cristaux se ramène à l'action d'un sel en solution concentrée et sans doute au phénomène d'exosmose des iodures qu'une pareille solution doit provoquer.

Exp. 58. — Expériences sur d'autres pieds de *L. flexicaulis* fraîches dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente.

a) Effet de petites quantités de glucose ajouté à l'eau de mer normale. Des solutions d'eau de mer contenant 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0, 12 % de glucose stimulent l'iodovolatilisation et il se forme une tache bleue au point où l'on a déposé une goutte de solution. Avec des teneurs plus faibles en glucose le résultat est douteux ou négatif. Sur certains pieds de

1. Il est fort possible que, dans cette expérience, ce ne soit pas le froid qui agisse, mais la pression de contact.

L. flexicaulis le glucose à 0,1 % dans l'eau de mer peut n'avoir aucun effet.

b) Effet de l'eau distillée. Sur certaines lames de *L. flexicaulis* une goutte d'eau distillée détermine une coloration bleue sur son emplacement. Sur d'autres pieds nous n'observons aucune coloration de l'amidon à la suite du contact de l'eau distillée sur des lames enduites d'empois.

c) Effet de l'eau distillée acétique. Avec de l'eau acétique à 1 % il y a toujours excitation de l'iodovolatilisation ; avec une teneur de 0,1 % l'excitation est faible, ou même n'a pas lieu sur certains pieds.

d) Effet de la fumée de tabac. On fait agir la fumée de tabac en plaçant une cigarette allumée au-dessous d'une partie de la fronde recouverte d'empois d'amidon. Au bout de quelques instants la zone la plus enfumée n'a pas bleui, mais tout autour il y a une bande bleue qui se forme. La fumée ayant cessé d'agir, en observe de petites régions bleutées qui apparaissent dans la région la plus enfumée, tandis que la forte coloration de bordure disparaît.

Exp. 59. — Effet d'un courant électrique. Les pôles d'un groupe d'éléments de pile de f. e. m. 4 v. sont reliés par des fils de cuivre à deux points d'une lame de *L. flexicaulis*, enduite d'empois d'amidon, distants de quelques centimètres. Autour de l'anode une zone elliptique bleutée se forme après une demi-minute de passage du courant. Le point de contact des deux électrodes s'entoure lui-même à petite distance d'un cercle bleu, le centre étant occupé par des cellules mortes et restant incolore.

Lorsqu'on fait traverser une fronde de *L. flexicaulis* par un courant alternatif de f. e. m. élevée, le point d'entrée du courant est le siège d'une émission d'iode provoquée et, si le contact est suffisant, les cellules sont tuées comme dans le cas d'une brûlure.

Dans les résultats obtenus par l'action d'un courant électrique il faut distinguer les effets produits au contact immédiat des électrodes qui sont dus à des phénomènes d'électrolyse, à la production d'acides ou de base, enfin de composés chimiques nocifs et les effets d'émission d'iode qui se produisent sur le trajet du courant entre les électrodes et sont dus à une excitation moins directe. Le courant électrique se propageant dans les tissus vivants y détermine sans doute des transports d'ions répartis sur une grande surface et par conséquent assez atténués dans leurs résultats.

Les recherches sont à poursuivre sur l'action des courants, l'action des radiations diverses et nous souhaitons qu'elles intéressent les chercheurs bien placés pour les réaliser.

Sensibilité des algues en place.

La méthode précédente nous a servi également à des expériences, non plus sur des Laminaires rapportées au laboratoire, mais sur des algues en place. Nous avons remarqué en effet que les Laminaires, sur la côte, au moment de la basse mer qui permet de les observer, sont plus sensibles aux actions extérieures que lorsqu'elles ont été récoltées depuis un certain temps, même s'il ne s'agit que de quelques heures. Dans un cas comme dans l'autre, il s'agit d'algues vivantes, mais il y a chez les Laminaires en place une sensibilité vraiment remarquable qui mérite d'être signalée spécialement.

Pour mettre en évidence des faits de ce genre il est nécessaire de prendre des précautions minutieuses : de l'empois d'amidon très liquide est préparé à l'eau de mer quelques heures d'avance et il est refroidi ensuite jusqu'à la température extérieure. Au moment de la basse mer, quelques gouttes de cet empois sont versées avec précaution sur des lames de *L. flexicaulis* émergées et l'on observe l'apparition éventuelle d'une coloration de l'empois. Plusieurs cas peuvent alors se présenter : 1° Il se produit aussitôt une coloration devenant rapidement bleu-noir foncé, là où l'empois a coulé de lui-même (cas surtout fréquent pour les Laminaires venant d'émerger) ; 2° il se produit seulement une coloration de l'empois en des points très limités (cas, par exemple, d'une Laminaire de cuvette partiellement émergée où l'empois se colore fréquemment sur la ligne de séparation entre l'eau et l'air) ; 3° il ne se produit aucune coloration de l'empois (cas surtout fréquent à marée montante, sur les algues émergées depuis longtemps).

Dans le cas où l'empois d'amidon ne s'est pas coloré, là où il a coulé de lui-même et s'est étalé à la surface d'une fronde, il suffit de frotter légèrement avec le doigt la région mouillée d'empois pour faire apparaître une coloration bleue au point touché. La même action produite au moyen d'une baguette de verre à bout arrondi donne le même résultat, mais se montre cependant moins efficace que le contact exercé avec le doigt ou avec une partie quelconque de la main. L'effet mécanique n'est peut-être pas seul en jeu dans ce dernier cas, mais aussi l'effet thermique.

Un autre genre d'actions mécaniques peut provoquer de l'iodovolatilisation : si l'on saisit avec la main l'extrémité des frondes d'une Laminaire mouillée d'empois au préalable et que l'on exerce une forte traction, il est facile de constater l'apparition d'une coloration de l'empois sur une région qui n'a pas subi de contact direct, mais qui a supporté seulement un effet d'étirement. Cet effet doit être assez énergique, mais il n'est pas nécessaire, pour qu'il soit suivi d'un résultat positif qu'il aille jusqu'au point où la rupture du stipe se produit.

Ces expériences sur la sensibilité des algues en place apportent donc des résultats qui complètent ceux que nous avions obtenus au laboratoire. La méthode de l'empois d'amidon, plus précise que celle des papiers amidonnés, parce qu'elle entraîne un minimum d'action de contact, nous a permis d'arriver à des faits nouveaux, non soupçonnés jusque-là. Ajoutons que la méthode des gouttes exposée précédemment a montré quel pouvait être le rôle de l'émersion. Il semble donc justifié d'envisager plusieurs actions extérieures naturelles et normales dans la vie des Laminaires, telles que les alternatives d'émersion et d'immersion, les variations de température et le choc des vagues comme susceptibles de faire varier l'iodovolatilisation ou de la provoquer si elle n'existait pas auparavant.

A ce propos nous nous permettons de rappeler que, en dehors de ces expériences avec l'empois d'amidon, l'existence de l'iodovolatilisation naturelle repose avant tout sur les expériences de coloration d'un papier amidonné obtenue à distance sur des algues en places, n'ayant subi aucun contact de la part de l'expérimentateur [5, p. 134]. Kylin nous paraît être dans l'erreur, lorsqu'il soutient, comme il le fait encore dernièrement [15, p. 204] que les espèces de *Laminaria* ne dégagent aucune trace appréciable d'iode dans les conditions normales. En tous cas, cette conclusion de Kylin ne peut pas s'appliquer d'après nous aux *Laminaria* des côtes françaises.

Action des iodures.

Nous avons montré en 1928 [4, p. 1156] que les iodures alcalins et particulièrement l'iodure de potassium exerçaient une influence remarquable sur l'émission d'iode libre par les Laminaires et quelques autres algues. L'iodure de potassium agit sur l'assise épidermique des Laminaires ou assise iodogène, en fournissant aux cellules qui l'absorbent l'aliment de leur production d'iode libre ; on s'explique ainsi le renforcement de l'iodovolatilisation normale. Nous avons plus tard [5. p. 220] donné le détail des expériences et montré comment l'action des iodures se ramenait à une action favorisante sur l'iodovolatilisation. Dans le cas d'iodovolatilisation naturelle, les cellules épidermiques « fonctionnent aux dépens des iodures renfermés dans les cellules corticales » ; dans le cas où des iodures extérieurs sont fournis, les cellules décomposent ces iodures, à mesure qu'ils sont absorbés [5, p. 220-221].

En 1929, Kylin observe également l'action des iodures sur les Laminaires [14, p. 77]. Après avoir admis tout d'abord que ces algues décomposaient les iodures exté-

rieurs par suite de la diffusion d'oxydases en dehors des cellules vivantes, il reconnaît, dans un travail ultérieur [15], que les iodures sont décomposés au niveau de la membrane extérieure des cellules épidermiques, par les oxydases qui imprègnent cette membrane. Il y a donc identité entre ce mécanisme et celui de l'iodovolatilisation et la conclusion de Kylin rejoint sur ce point celle que nous avions adoptée auparavant.

Cependant, entre temps, nous poursuivions les recherches sur l'action des iodures sur les Laminaires, dans le but de préciser l'action des solutions de diverses concentrations agissant pendant des intervalles de temps bien définis. Nous avons surtout cherché à montrer que les iodures étaient absorbés et pénétraient dans les tissus. Pour ces expériences nous avons employé, soit le dispositif du tube à deux ouvertures, soit des tubes en U.

On peut diviser les diverses concentrations en iodures dont l'action a été recherchée sur les Laminaires en teneurs faibles (< 1 °/₀₀), teneurs moyennes, comprises entre 1 % et 1 °/₀₀, et teneurs fortes (> 1 %).

Teneurs faibles. — La teneur la plus faible dont nous ayons pu faire l'essai est celle du millionième : en effet cette teneur représentait la plus faible proportion d'iodure qu'il nous était possible de caractériser avec certitude dans l'eau de mer (La méthode employée consistait à mettre en liberté l'iode de la solution par l'action de SO^4H^2 ou HCl à 5 % additionnés de nitrite de soude et à recueillir l'iode par agitation dans un tube à essai avec deux ou trois gouttes de benzine : cette méthode est rapide et elle permet de reconnaître la présence d'iodures au millionième dans l'eau de mer).

Exp. 60. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* étant placé dans une telle solution, nous avons constaté que la disparition des iodures était presque complète au bout d'un quart d'heure. Dans une autre expérience, l'absorption, partielle en un quart d'heure, était totale ou presque totale en deux heures.

Les expériences sur les solutions à 1 p. 500.000 sont plus nombreuses. Nous indiquerons les résultats brièvement.

a) Expérience montrant une absorption très sensible en un quart d'heure ; la teneur est devenue à peu près du millionième.

b) Expérience montrant une absorption presque totale en une demi-heure ; il demeure seulement des traces d'iodures au bout de ce temps.

c) Expérience montrant une obsorption totale en une demi-heure.

d) Expérience montrant une absorption presque totale en deux heures.

Solution à 1 p. 200.000.

Une expérience montrant une absorption presque complète en une h.

Solution à 1 p. 100.000.

a) Absorption non reconnaissable au bout d'un quart d'heure.

b) Absorption partielle en deux heures.

c) Absorption presque totale en deux heures, complète en huit heures.

d) Absorption totale en trois heures.

e) Absorption presque totale en deux heures.

Solution à 1 p. 25.000.

Une seule expérience montrant une forte absorption en 2 h. 1/2 et l'absorption complète en 5 heures. On s'est assuré avant l'analyse des iodures que la solution ne renfermait pas d'iode libre.

Dans toutes les expériences précédentes sur l'influence des solutions faibles d'iodures il se produit une disparition graduelle des iodures qui sont évidemment absorbés, cependant, comme il est probable qu'une certaine volatilisation d'iode se produit au niveau de la membrane extérieure, il peut se produire la décomposition d'une partie indéterminée des iodures fournis, mais la quantité d'iode libre émise est trop faible pour être observée par l'analyse du liquide.

Exp. 61 — *Teneurs moyennes.* — Nous savons déjà que les solutions d'iodures à 1 °/₀₀ dans l'eau de mer ont

une action favorisante très marquée sur l'iodovolatilisation des Laminaires. Après un court séjour dans ces solutions un stipe de *L. flexicaulis* émet fortement de l'iode et, comme le fait se produit après un lavage soigné dans l'eau de mer courante, ce ne sont pas les iodures extérieurs, comme nous l'avons fait remarquer [8, p. 63] qui peuvent alimenter cette production d'iode, mais seulement les iodures absorbés. Il semble d'autre part difficile d'admettre que seuls les iodures retenus dans la membrane extérieure des cellules épidermiques puissent expliquer une émission d'iode prolongée comme celle que l'on constate après un séjour dans l'eau de mer iodurée.

Cette question est particulièrement intéressante à discuter, parce que Kylin récemment a soutenu que les iodures mis au contact d'un thalle vivant de *L. flexicaulis* étaient décomposés au niveau de la membrane extérieure des cellules épidermiques sous l'influence d'oxydases présentes dans cette membrane ; il en déduit que les Laminaires ne peuvent pas absorber l'iode sous forme d'iodures [15, p. 209]. Nous pensons qu'il est exagéré de prétendre que les iodures ne peuvent pas pénétrer dans les cellules épidermiques et de là dans la profondeur des tissus. Pour nous, lorsqu'une Laminaire est placée vivante dans une solution convenable d'iodures, une partie importante traverse l'épiderme et s'accumule dans les tissus ; une partie seulement est décomposée par l'assise iodogène au niveau de sa membrane extérieure par le mécanisme de l'iodovolatilisation.

Lorsqu'une Laminaire est restée un certain temps dans une solution d'iodures, tout se passe comme si cette Laminaire s'était ravitaillée en iodure, de telle sorte que, même après lavage, elle continue pendant longtemps à émettre de l'iode aux dépens des iodures absorbés et cette absorption ne peut pas être limitée à la membrane extérieure.

Nous avons noté que le séjour prolongé durant des heures d'une Laminaire dans une solution d'iodure à 1 ‰ dans

l'eau de mer n'était pas nuisible aux cellules qui restent vivantes, même après 24 heures par exemple.

Les solutions à 1 % ne sont pas non plus rapidement nuisibles aux Laminaires. Nous l'avions cru tout d'abord [6, p, 223] mais, en réalité, ces solutions peuvent aussi bien que les solutions à 1 ‰ avoir une influence favorisante sur l'iodovolatilisation et les cellules épidermiques des *Laminaria* ne sont pas tuées par des séjours assez prolongés (plusieurs heures) dans de pareilles solutions. Cette exceptionnelle adaptation aux iodures est un trait marquant de la physiologie des Laminaires.

Teneurs fortes. — La résistance des cellules épidermiques aux iodures apparaît également avec des concentrations plus fortes qui peuvent être supportées un certain temps.

Solutions de KI à 2.5 % dans l'eau de mer.

Exp. 62 à Roscoff en avril 1930. — Un stipe de *L. flexicaulis* séjourne un quart d'heure dans la solution. Le liquide décanté ensuite ne contient pas d'iode libre et le stipe, après lavage dix minutes dans l'eau de mer courante bleuit un papier amidonné très fortement. Les cellules épidermiques sont toutes vivantes et se colorent vitalement par le bleu de crésyl. Le stipe ayant été lavé à nouveau dans l'eau de mer courante pendant vingt minutes, bleuit fortement ensuite un papier amidonné.

On peut déduire de cette expérience qu'une Laminaire vivante placée dans une solution de KI à 2,5 % absorbe une grande quantité d'iodures, mais n'en décompose qu'une petite proportion. Au sortir de la solution au contraire cette Laminaire émet fortement de l'iode, même après lavage prolongé, aux dépens des iodures absorbés.

Exp. 63 à Roscoff en septembre. — Un stipe frais de *L. flexicaulis* séjourne une demi-heure dans la solution à 2,5 % ; puis il est lavé dans un cristallisoir sous le robinet d'eau de mer courante ; placé ensuite sur un papier amidonné il le bleuit très fortement ; après avoir été séché dans un papier buvard, il bleuit encore très fortement l'amidon. Les cellules épidermiques ont pu être colorées vitalement par le bleu de crésyl : elles sont donc certainement vivantes. Le lavage dans l'eau de mer

courante a été ensuite prolongé pendant une heure encore ; après ce lavage le stipe colorait entre très fortement un papier amidonné.

Exp. 64 à Roscoff en septembre. — L'expérience est faite comme précédemment, mais le séjour dans la solution est prolongé une heure. Ensuite on constate que le liquide décanté ne contient pas d'iode libre appréciable. Le stipe de *Laminaria* après un lavage de quatre heures à l'eau courante bleuit fortement un papier amidonné, d'autre part un essai de coloration vitale au bleu de crésyl montre que toutes les cellules sont sucseptibles de se colorer vitalement.

Solutions de KI à 5 % dans l'eau de mer.

Exp. 65. — *a*) Après séjour d'un stipe de *L. flexicaulis* pendant vingt-minutes dans une solution à 5 %, on constate que le liquide décanté au bout de ce temps ne contient pas d'iode libre. Le stipe, après un lavage de dix minutes dans l'eau courante, bleuit un papier amidonné très fortement ; d'autre part les cellules épidermiques se colorent vitalement par le bleu de crésyl.

b) Dans une autre expérience un stipe de *L. flexicaulis* séjourne cinq heures dans une solution de KI à 5 % et, au bout de ce temps, l'eau décantée ne contient pas d'iode libre appréciable. Le stipe est ensuite lavé à l'eau de mer courante pendant une heure ; après, il dégage fortement de l'iode et les cellules sont vivantes, car elles se colorent vitalement par le bleu de crésyl ; quelques-unes cependant sont mortes.

Solutions de KI à 10 % dans l'eau de mer.

Exp. 66. — Un stipe de *L. flexicaulis* placé dans une solution aussi concentrée résiste un certain temps ; il n'apparaît pas d'iode libre dans la solution ; au bout d'un quart d'heure, les cellules épidermiques sont encore vivantes et il se produit une forte volatilisation au sortir de la solution. Au bout d'une demi-heure les cellules épidermiques sont tuées et il n'y a plus d'émission d'iode après un séjour de cette durée dans l'iodure à 10 %.

Absorption des iodures par les stipes de Laminaires observée par la méthode des coupes.

Il est possible de se rendre compte directement de l'absorption des iodures par les Laminaires au moyen des

diagrammes de répartition de l'iode dans les tissus obtenus par une méthode précédemment décrite [5 p. 170]. Un fragment de stipe de *Laminaria flexicaulis* est placé dans une solution d'iodures d'une certaine concentration, faite dans l'eau de mer, de telle façon qu'un secteur seulement du stipe soit en contact avec la solution. Il se produit, au bout d'un temps variable, une absorption limitée à la région immergée dans la solution d'iodures. Le stipe est

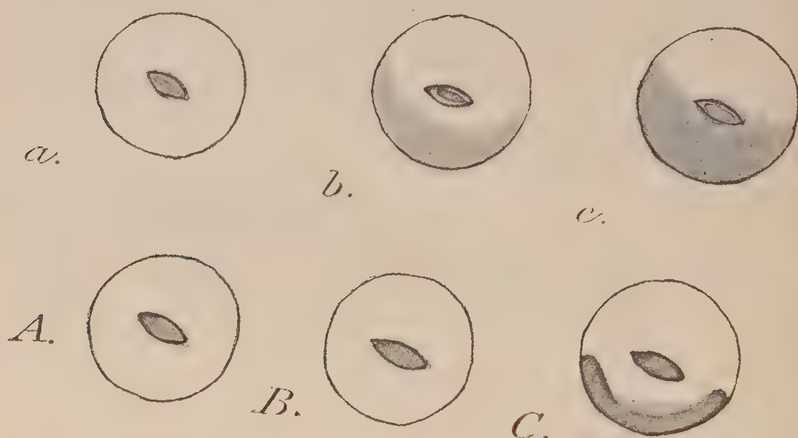


Fig. 3. — (*a*), Diagramme de répartition de l'iode dans un stipe de *L. flexicaulis* avant l'expérience ; (*b*), diagramme après un séjour de 6 heures dans de l'iodure à 1 ‰ ; (*c*), diagramme après un séjour de 6 heures dans de l'iodure à 1 %. (A.) et (B.) Diagrammes aux deux extrémités d'un tronçon de stipe avant l'expérience ; (C.), diagramme après une 1/2 heure dans de l'iodure à 1 % (immersion unilatérale).

donc, après l'expérience, lavé quelques minutes dans l'eau de mer pour enlever les iodures extérieurs ; on examine ensuite quelle est la répartition des iodures dans les tissus par la méthode des coupes. Cette répartition indique très nettement l'importance et la localisation des iodures absorbés.

Cette méthode donne des résultats remarquablement précis, comme on peut le constater en consultant quelques-uns des diagrammes obtenus (fig. 3 et 4, p. 262 et 263). Si le

stipe de Laminaire a été placé tout entier dans la solution d'iodures, la région où les iodures ont pénétré forme une zone corticale continue, plus ou moins épaisse suivant la durée du contact (fig. 5, p. 264), mais si un secteur seulement était plongé dans la solution, le diagramme indique seulement des iodures dans cette région.

Pour obtenir un résultat bien net il faut choisir des stipes de *L. flexicaulis* dépourvus, autant que possible, naturellement, de réserves d'iode corticales ou intermédiaires, de façon à ce que la comparaison soit facile entre

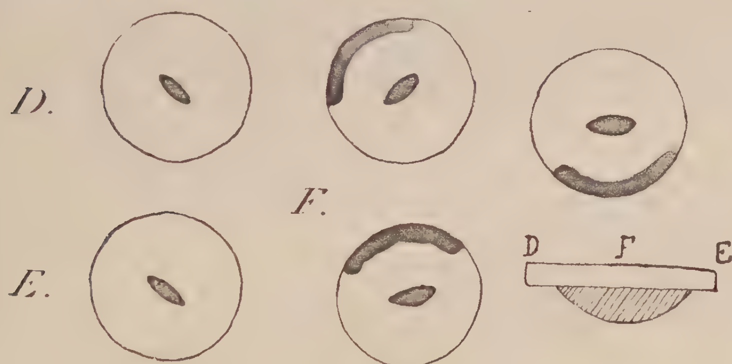


Fig. 4. — (D. E.) Diagrammes de répartition de l'iode obtenus aux deux extrémités d'un tronçon du stipe de *L. flexicaulis* ; (F.) Trois diagrammes obtenus dans la partie médiane du même tronçon qui a été plongée d'un seul côté pendant deux heures dans une solution d'iodure de K à 1 ‰ dans l'eau de mer.

les coupes correspondant à l'état naturel du stipe et celles qui correspondent à l'état obtenu après absorption des iodures. Comme on ne peut pas observer la répartition de l'iode exactement sur la même région d'un stipe avant et après absorption, il est nécessaire de comparer des points assez voisins les uns des autres, situés de part et d'autre de la région qui absorbe. C'est ce que nous avons figuré (fig. 3 et 4, p. 262, 263).

L'absorption des iodures est variable en vitesse et en intensité suivant la concentration de la solution. Les

expériences ont porté seulement sur des solutions d'iodures à 1 % et à 1 ‰ qui ont été laissées en contact avec les Laminaires au moins une heure. Nous avons vu que ces teneurs en iodures n'étaient pas nuisibles rapidement aux

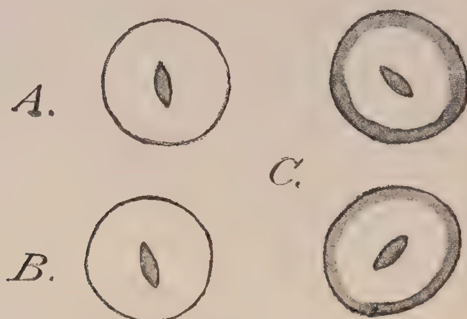


Fig. 5. — (A.) et (B.) Diagrammes aux deux extrémités d'un tronçon de stipe avant l'expérience ; (C.), deux diagrammes après une 1/2 heure dans de l'iodure à 1 % (immersion totale).

tissus vivants qui peuvent séjourner très longtemps dans de pareilles solutions sans être altérés.

Dans l'iodure à 1 ‰, au bout d'une heure, l'absorption est très nette, mais elle est limitée à la zone corticale. Dans l'iodure à 1 % en une heure, l'absorption est plus marquée encore et au bout de six heures on constate une très forte absorption atteignant le centre de la coupe.

Action des iodures chez les Fucacées.

Les iodures en dissolution dans l'eau de mer agissent sur plusieurs Fucacées, comme chez les Laminaires, en stimulant l'iodovolatilisation. C'est ce qui résulte d'expériences dont nous avons donné les résultats précédemment [5, 1929].

Le fait a été observé chez les Fucacées suivantes : *Pelvetia canaliculata*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesi-*

culosus, *serratus* et *platycarpus* (très faiblement chez cette dernière espèce).

De nouvelles expériences sur ces algues ont eu pour but de montrer que la production d'iode libre constatée sous l'influence des iodures était due à la décomposition des iodures absorbés par les thalles vivants.

Exp. 67. — *Pelvetia.* — Nous avons prolongé l'action des iodures en faisant séjourner une touffe de *Pelvetia* dans l'eau de mer additionnée d'iodure de potassium à 1 ‰, pendant 12 heures. Au bout de ce temps-là, un fragment de cette touffe est placé, après égouttage, sur un papier amidonné où il détermine bientôt une forte coloration bleue dans la région de contact. La coloration est obtenue encore sur un papier amidonné neuf, après plusieurs heures, alors que le *Pelvetia* commence à se dessécher un peu.

Exp. 68. — Dans une expérience analogue, de même durée, le *Pelvetia* ioduré a été lavé une demi-heure dans l'eau de mer, puis placé sur un papier amidonné qu'il bleuissait assez fortement. Il semble donc prouvé que le *Pelvetia* absorbe les iodures, de sorte que l'émission d'iode observée ensuite, après lavage, provient évidemment de la décomposition des iodures absorbés suivant un mécanisme analogue à celui de l'iodovolatilisation des Laminaires.

Ascophyllum nodosum.

Exp. 69. — Comme pour le *Pelvetia* l'action d'une eau de mer iodurée à 1 ‰ détermine une forte émission d'iode que l'on observe facilement au sortir de la solution, non seulement sur une algue qui reste imprégnée d'iodures, mais sur une algue lavée pendant plusieurs minutes dans l'eau de mer courante.

Le lavage dans l'eau de mer courante enlève certainement toute trace d'iodures extérieurs au thalle ; il ne peut enlever par contre les iodures qui ont pénétré, soit dans la membrane extérieure, soit dans la profondeur des tissus. L'iodovolatilisation constatée après lavage est donc une production d'iode aux dépens de ces iodures absorbés qui sont venus s'ajouter à ceux que les *Ascophyllum* contiennent naturellement.

Dans les conditions naturelles l'iodovolatilisation observée chez les *Ascophyllum* est toujours bien plus faible que chez les *Laminaria.* Sous l'influence des iodures ce phénomène est stimulé, mais le mécanisme qui aboutit à la production d'iode libre reste toujours le même.

Action des iodures sur les Floridées.

Lorsque nous avons réalisé nos expériences sur l'iodovolatilisation des Floridées, nous avons placé ces algues sur des papiers amidonnés, soit directement, soit après les avoir iodurées. Or, quelques années auparavant, Gertz avait montré que plusieurs Floridées avaient la propriété de décomposer les iodures en milieu faiblement acide et il attribuait ce fait à la présence d'oxydases chez ces algues. Depuis le travail récent de H. Kylin sur le même sujet [14], il paraît démontré par de nombreuses expériences que certaines Floridées sont riches en oxydases qui diffusent facilement en dehors des cellules et déterminent le bleuissement d'un empois d'amidon additionné d'iodure de potassium et acidifié par l'acide acétique.

On pouvait se demander quelle relation il y avait entre les phénomènes d'iodovolatilisation que nous avions signalés et l'existence d'oxydases chez les Floridées. Déjà dans un précédent mémoire nous avions donné notre opinion à ce sujet et nous avions montré que les algues à volatilisation et les algues où l'on a trouvé des oxydases sont jusqu'ici des espèces différentes et que les anesthésiques, l'éther par exemple, agissent différemment sur ces deux catégories d'algues : une algue qui a été tuée dans les vapeurs d'éther ne volatilise plus, tandis qu'elle donne la réaction des oxydases plus rapidement que lorsqu'elle est vivante [8, p. 69].

Dans ces derniers temps nous avons continué les recherches sur le groupe des Floridées, avec l'intention de

mettre en évidence les oxydases suivant une méthode analogue à celle de Kylin, mais en faisant varier certains facteurs, tels que la concentration en iodure et d'appliquer d'autre part cette méthode aux algues à volatilisation de façon à mettre en évidence plus complètement les différences qui séparent ces deux catégories d'algues.

Pour observer les oxydases des Floridées la méthode est très simple : il suffit de placer un fragment des algues fraîches sur un papier bristol (1) dans une goutte d'iodure de potassium à 1 % à laquelle on ajoute une goutte d'acide acétique à 1 %. Le tout est placé à l'obscurité et il faut surveiller de temps à autre l'apparition d'une coloration bleue éventuelle, en déplaçant au besoin légèrement les fragments de thalles.

Dans ces conditions, si l'on voit apparaître une coloration bleue au-dessous de l'algue au bout d'un quart d'heure, d'une demi-heure, ou même d'une heure ou deux, c'est le signe qu'une oxydase a diffusé en dehors des tissus. En effet lorsqu'on place à basse température et à l'obscurité, en contact avec un papier amidonné, un mélange à parties égales d'iodure à 1 % et d'acide acétique à 1 % le papier commence seulement à prendre une légère teinte violacée au bout de deux ou trois heures ; s'il apparaît donc une franche coloration bleue après une heure ou deux au-dessous d'une algue placée dans un pareil liquide, c'est qu'il est intervenu un principe nouveau, une oxydase.

Par ce moyen nous avons reconnu la présence d'oxydases chez plusieurs Floridées déjà connues ou non pour cette propriété : *Furcellaria fastigiata*, *Rhodomela subfusca*, *Pterosiphonia pennata*, *Polysiphonia fastigiata*, *P. nigrescens*, *elongata*, *urceolata*, *Delesseria sanguinea*.

Il y a absence d'oxydases au contraire chez les *Polyides rotundus*, *Griffithsia setacea*, *Ceramium rubrum*, *Cystoclonium* et absence également, ce qui est plus intéressant,

1. Le papier bristol naturel est très légèrement acide, ce qui n'est pas de nature à troubler les expériences ci-après.

de réaction oxydasique chez des algues à volatilisation : *Gracilaria confervoides* et *Calliblepharis jubata.*

Pour mettre en évidence l'influence de la concentration en iodure, nous avons placé des Floridées telles que *Rhodomela subfusca, Furcellaria fastigiata* dans de l'iodure à 1 p. 1000 au lieu d'iodure à 1 %, toutes conditions d'expériences étant les mêmes par ailleurs. Voici une expérience de ce genre faite à Roscoff.

Exp. 70. — *Rhodomela subfusca* dans KI à 1 % + ac. acét. à 1 % à 11 h. 15. A 11 h. 45, c'est-à-dire une demi-heure après le début de l'essai, il y a eu un fort bleuissement au-dessous de l'algue.

Rhodomela subfusca dans KI à 1‰ + ac. acét. 1 % à 12 heures. A 13 h. 30 il ne s'est pas produit de bleuissement au-dessous de l'algue.

Il est donc important lorsqu'on veut observer des oxydases de les faire agir sur des iodures assez concentrés, ce qui s'explique par l'action plus rapide des oxydases sur les iodures concentrés et aussi par la sortie plus rapide des oxydases en dehors des cellules, dans un milieu qui altère plus rapidement les tissus.

La concentration du millième en iodure est en tous cas insuffisante, c'est ce que montre encore l'expérience suivante.

Exp. 71. — *Furcellaria fastigiata* dans KI à 1 ‰ + ac. acét. à 1 % à 12 heures. A 13 heures il ne s'est produit aucune coloration bleue. On ajoute alors un peu de KI à 1 % et, au bout de dix minutes on observe une coloration bleue au-dessous de l'algue.

Le fait semble général et nous l'avons observé avec d'autres algues à oxydases, telles que *Polysiphonia nigrescens, Polysiphonia elongata,* chez lesquelles la démonstration des oxydases est négative ou très lente dans l'iodure à 1 ‰, même acidifié.

D'autre part l'acidité du milieu est nécessaire et, par exemple, de l'acide acétique à 5 % favorise beaucoup la mise en évidence d'oxydases chez le *Furcellaria.*

Exp. 72. — *Furcellaria fastigiata* dans KI à 1 % + ac. acét. à 5 % à 15 heures. A 15 h. 5 une légère coloration bleue se montre en un point ; à 15 h. 15 une forte coloration bleue apparaît au-dessous de l'algue.

L'acide chlorhydrique à 5 % empêche au contraire la manifestation des oxydases.

Furcellaria fastigiata dans KI à 1 % + HCl 5 % à 15 heures. A 15 h. 5 légère coloration rosée ; à 15 h. 15 légère coloration violacée qui s'étend à tout l'emplacement mouillé par l'iodure et n'est pas le fait de l'algue.

L'influence de l'acidité a été très soigneusement étudiée par Kylin pour les concentrations en acide acétique au dessous de 1 % [14, p. 76]. Il a montré en particulier que le *Furcellaria fastigiata* ne colorait pas un papier amidonné imbibé d'iodures en dissolution dans l'eau de mer ou dans l'eau distillée. Malheureusement il n'a pas indiqué la concentration en iodures dans ses expériences, ce qui est pourtant d'une très grande importance au point de vue des résultats à obtenir.

Appliquons maintenant les méthodes précédentes aux Floridées à iodovolatilisation de façon à établir une comparaison avec les algues à oxydases. Voyons comment se comporte le *Gracilaria confervoïdes* dans diverses solutions d'iodure.

Exp. 73. — *Gracilaria confervoides* dans KI à 1 % (sans acide). Au bout de trois minutes une légère coloration bleue s'observe au-dessous de l'algue. Cette coloration ne s'accentue pas ensuite et finalement disparaît.

Gracilaria confervoides dans KI a 1 % + ac. acét. à 1 %. Pas de coloration au bout de quelques minutes ; même résultat au bout d'une demi-heure.

On voit que l'acidité du milieu, loin de favoriser la coloration du papier amidonné comme chez les Floridées à oxydases, empêche au contraire cette coloration.

D'autre part, avec le *Gracilaria confervoïdes*, c'est la concentration en iodure du millième qui favorise le plus la coloration du papier amidonné, comme nous l'avons déjà montré précédemment, tandis que cette concentration

est insuffisante, comme nous l'avons vu plus haut, à la démonstration des oxydases. Voici quelques expériences sur ce sujet et en même temps sur l'action de l'éther.

Gracilaria confervoides placé sur un papier amidonné imbibé d'iodures à 1 ‰ dans l'eau de mer. Au bout d'*une minute*, le papier est coloré en bleu au-dessous des frondes. Cela a été revu plusieurs fois ; souvent même la coloration est visible au bout d'une demi-minute.

Gracilaria confervoides soumis à la même expérience que précédemment, mais après avoir été traité partiellement par les vapeurs d'éther durant cinq minutes de façon à tuer les cellules épidermiques. Il ne se produit pas de coloration bleue ensuite au-dessous de la partie du thalle qui a séjourné dans l'éther, tandis que l'autre partie bleuit fortement le papier amidonné.

Pour résumer les résultats obtenus dans cette comparaison entre les Gracilariées et les Floridées à oxydases, nous énumérerons les caractères différentiels de ces deux catégories d'algues.

L'action de l'éther sur un *Gracilaria*, suffisante pour tuer les cellules épidermiques, empêche cette algue de colorer ensuite un papier amidonné et ioduré ; au contraire avec les algues à oxydases, lorsque les fragments de thalle ont été tués par les vapeurs d'éther, la coloration bleue se manifeste beaucoup plus rapidement dans les mêmes conditions, surtout dans les essais avec de l'eau distillée ou de l'eau de mer (Kylin, 14, p. 77). Les oxydases, en effet, diffusent en dehors des cellules mortes et non en dehors des cellules vivantes chez ces algues, selon Kylin et l'action de l'éther s'explique ainsi parfaitement.

Lorsqu'on n'a pas fait agir d'éther au préalable sur les Floridées à oxydases, on ne peut s'attendre à obtenir la coloration, par ces algues, d'un papier amidonné et ioduré que si la solution d'iodure est suffisamment concentrée et suffisamment acidifiée. Ainsi la démonstration des oxydases est négative, ou très lente dans une solution d'iodure à 1 ‰, même acidifiée comme nous l'avons vu plus haut. Avec les Gracilariées c'est l'inverse qui a lieu.

Il paraît établi que les caractères des Floridées du type des Gracilariées sont les mêmes, au point de vue de la façon dont elles se comportent dans les solutions d'iodures, que ceux des Fucacées et des Laminaires. Il s'agit pour toutes ces algues d'iodovolatilisation, c'est-à-dire de la propriété, possédée à des degrés divers, d'émettre de l'iode libre par décomposition des iodures qu'elles renferment naturellement, ou des iodures qu'elles absorbent lorsqu'on les place dans une solution artificielle de ces sels alcalins.

Résumé.

Les principaux faits expérimentaux établis au cours des recherches venant d'être exposées sont en résumé les suivants:

Les Laminaires (*L. flexicaulis*), lorsqu'elles sont placées dans des conditions d'expérience aussi voisines que possible de l'état normal, font apparaître de l'iode libre dans l'eau de mer qui les baigne. Si les conditions s'éloignent davantage de l'état normal, de l'iode combiné se montre dans l'eau de mer, à l'exclusion de l'iode libre, mais cette combinaison d'iode est d'une nature telle qu'un acide dilué la détruit facilement en libérant de l'iode (iode acidilabile).

Le composé iodé labile ainsi obtenu se conserve à la température de l'ébullition. Un corps analogue s'obtient en faisant diffuser de l'iode en paillettes dans une certaine quantité d'eau de mer.

Les Laminaires fraîches, dans l'eau de mer, ne laissent pas diffuser les iodures au dehors ; les iodures apparaissent seulement lorsque se produit une certaine altération des cellules vivantes.

Dans l'eau de mer artificielle (dépourvue d'iode), au début du séjour d'une Laminaire fraîche, de l'iode libre ou de l'iode acidilabile peuvent apparaître, dans les mêmes

conditions que pour l'eau de mer normale ; des iodures se montrent ensuite, dès qu'une certaine altération se manifeste.

Les Laminaires fraîches, placées dans l'eau douce ou dans l'eau distillée, laissent diffuser aussitôt de l'iode libre et des iodures ; les cellules restent vivantes assez longtemps dans ce milieu anormal. Si les cellules ont été tuées préalablement, seuls les iodures passent dans le milieu extérieur.

Après un séjour prolongé de Laminaires fraîches dans de l'eau de mer, de l'eau douce, ou de l'eau distillée, un extrait aqueux peut être obtenu qui est riche en iodures et qui contient en outre un « libérateur » de nature inconnue, mais non oxydasique.

L'eau de mer qui s'écoule de la surface d'une Laminaire fraîche, prise en place et immergée, et qu'on vient de sortir de l'eau, contient presque toujours une proportion importante d'iode libre, facile à reconnaître ; elle ne contient pas d'oxydases.

Le produit obtenu en grattant la surface d'une Laminaire fraîche, de façon à enlever la partie extérieure de la membrane périphérique, contient un principe acide et un principe oxydant susceptibles d'agir sur les iodures en libérant de l'iode. Le principe oxydant paraît être de la nature des oxydases.

Le produit de grattage contient aussi fréquemment de l'iode libre.

L'action des traumatismes sur l'iodovolatilisation n'est pas uniquement due aux iodures épanchés sur le bord des blessures ; il résulte surtout d'une excitation particulière des cellules iodogènes.

Les causes les plus variées peuvent provoquer l'iodovolatilisation ou la stimuler à la surface des thalles vivants. La surface des Laminaires est constituée de telle sorte qu'elle émet de l'iode par voie réflexe sous l'influence de facteurs très divers. Les algues en place surtout se

montrent d'une sensibilité extrême aux actions extérieures.

Les Laminaires peuvent supporter sans être rapidement tuées des doses assez considérables d'iodures sous forme d'eau de mer iodurée. Elles absorbent les iodures et les mettent en réserve dans la profondeur des tissus.

Dans les solutions faibles ou moyennnes d'iodures elles produisent de l'iode libre à la périphérie du corps en décomposant les iodures absorbés.

Chez certaines Floridées les iodures mis au contact des thalles sont décomposés et de l'iode libre mis en liberté, sous l'influence d'oxydases sorties des cellules altérées. Chez d'autres Floridées les iodures sont décomposés par un mécanisme analogue à l'iodovolatilisation des Laminaires (Gracilariées).

Voici maintenant quelques-unes des idées trés générales que suggèrent les faits précédents ou qui en découlent avec un degré plus ou moins grand de certitude.

Nous savons que l'eau de mer est la source première de l'iode (1). Les algues riches en iode, comme les Laminaires, représentent un milieu iodé beaucoup plus concentré que l'eau de mer, mais infiniment moins vaste, qui n'a pu se constituer qu'en puisant à la source première. Un champ de Laminaires correspond à une quantité d'iode importante accumulée dans un espace réduit, après avoir été empruntée à un volume considérable d'eau de mer.

L'iodovolatilisation d'autre part implique une production d'iode libre à la périphérie des thalles vivants, au niveau de la membrane extérieure. Dans le cas d'une algue émergée, à l'air libre, cet iode provient nécessairement de l'iode combiné des tissus ; dans le cas d'une algue immergée il doit en être de même, mais nous ignorons dans quelle mesure et sous quelle forme l'iode combiné de l'eau de

1. L'eau de mer est la source de l'iode pour les algues qui s'y développent. Il est bien entendu qu'il existe d'autres sources d'iode (le sol terrestre, les minéraux, les eaux douces, etc.).

mer intervient. Nous savons seulement qu'il intervient nécessairement.

La difficulté en ces matières tient à ce que l'iode libre, dans l'iodovolatilisation, se forme à la limite de séparation entre le milieu vivant (représenté par l'algue) et l'eau de mer. Cette limite, en fait, c'est la membrane extérieure des thalles qui la constitue, c'est-à-dire une zone de transition entre ce qui est vivant et ce qui ne l'est pas.

La difficulté vient surtout de notre ignorance des combinaisons iodées de l'eau de mer et de leur mode de pénétration dans les algues. Tout ce qu'il est possible d'affirmer, c'est que l'assimiliation de l'iode par les Laminaires et son incorporation dans les tissus s'accompagnent dans certains cas d'une production d'iode libre à la périphérie du corps.

Pour les algues émergées cette volatilisation correspond certainement à une sortie d'iode au dehors, donc à une perte pour les tissus, car l'iode qui passe dans l'atmosphère ne peut être récupéré. L'émersion chez les Laminaires est rare et probablement nuisible, en tous cas elle n'est pas indispensable, puisque beaucoup de Laminaires vivent constamment immergées.

Pour les algues qui n'émergent pas, il paraît certain que l'iodovolatilisation correspond également à une sortie effective d'iode dans le milieu extérieur, représenté ici par l'eau de mer : en effet les expériences qui le montrent réalisent presque exactement les conditions naturelles.

Cette sortie d'iode, considérée isolément, représenterait une perte d'iode pour l'algue; or, au contraire, la croissance d'une Laminaire correspond à un gain. Que faut-il conclure ? ou bien que nos expériences, dans le cas des algues immergées, n'auraient réussi à mettre en évidence que des faits anormaux, ou bien, comme nous le pensons de préférence, que l'absorption est suffisante pour compenser et au delà le phénomène inverse. Ce phénomène inverse n'a pas d'ailleurs, sans doute, un caractère continu, de sorte que son influence exacte ne saurait être évaluée à l'heure actuelle.

BIBLIOGRAPHIE

[1] DANGEARD (Pierre. — Sur le dégagement d'iode libre chez les algues marines. *Comptes rend. Acad. Sc.* Paris, t. 186, p. 892, 1928.

[2] — Sur les conditions du dégagement de l'iode libre chez les Laminaires. *Ibid.*, t. 186, p. 1371, 1928.

[3] — Contribution à la connaissance du cycle de l'iode chez les algues marines. *Le Botaniste*, XX, fasc. III, p. 69-115, 1928.

[4] — Action favorisante de l'iodure de potassium sur l'iodovolatilisation. *Comptes rendus Ac. Sc.* Paris, t. 187, p. 1156, 1928.

[5] — L'iodovolatilisation chez les Algues marines et les problèmes de l'iode. *Le Botaniste*, sér. XXI, p. 129-266, 3 pl., juillet 1929.

[6] — Sur quelques algues iodifères nouvelles. *Comptes rendus Ac. Sc.*, t. 189, p. 862, 1929.

[7] — Sur l'influence de l'oxygène dans l'iodovolatilisation. *Comptes rendus Ac. Sc.* Paris, t. 190, p. 131, 13 janvier 1930.

[8] — Recherches sur les iodures, l'iodovolatilisation et les oxydases chez les Algues marines. *Le Botaniste*, sér. XXII, p. 33-73, 1930.

[9] — Sur l'obtention aux dépens des Laminaires d'un complexe iodé labile. *Comptes rendus Acad. Sc.* Paris, t. 191, p. 337, 18 août 1930.

[10] — La sensibilité des Laminaires aux actions extérieures et l'iodovolatilisation. *Comptes rendus Acad. Sc.* Paris, t. 192, p. , 1931.

[11] — A propos d'un travail récent de H. Kylin. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 1930.

[12] DILLON. — An iodine liberator from Laminariæ. *Nature*, février 1929, p. 161.

[13] KAY (H. D.). — *Nature*, mars 1929.

[14] KYLIN (H.). — Uber das Vorkommen von Iodiden, Bromiden und Iodidoxydasen bei den Meeresalgen. *Hoppe-Seyl. Zeitsch. f. Phys. Chem. Bd.*, 186, H. 1 u. 2, p. 50-84, 1929.

[15] — Uber die Iodispaltende Fähigkeit der Phæophyceen. *Ibid.*, Bd. 191, Heft 5 et 6, p. 200-210, 1930.

[16] LUNDE (G) et CLOSS (K.). — An iodine liberator from Laminariæ. *Nature*, 578, octobre 1929, p. 578.

[17] — Uber die Bindungsart des Iods bei *Laminaria digitata*. *Biochem, Zeitsch.*, 219, p. 198, 1930.

TABLE DES MATIÈRES

QUELQUES REMARQUES SUR *CHLOROCHROMONAS POLYMORPHA*, SPEC. NOV.

par Pierre Gavaudan.

Cet organisme, dont la place paraît se trouver à la base du groupe des Héterokontées, a été rencontré au début du mois de décembre 1930 dans un cristallisoir où végétaient des Saprolégniées, des Euglènes et des *Monas*, dans une eau très corrompue provenant d'un bassin du parc de Versailles, et renfermant des marrons d'Inde en putréfaction.

Ce *Chlorochromonas*, dont la détermination nous a longtemps embarrassé, s'est abondamment développé en peu de jours à la chaleur du laboratoire, en même temps que de nombreux *Polytoma*.

L'incertitude dans laquelle nous nous trouvions pour lui assigner une place définitive dans la classification, était provoquée par le grand polymorphisme de l'espèce que nous rapportions provisoirement soit à l'*Ochromonas mutabilis* Klebs, soit à l'*Ochromonas granulosa* Meyer.

Les premiers individus qui attirèrent notre attention étaient porteurs de flagelles inégaux, d'une vacuole contractile, d'un stigma parfois très développé ; ils avaient une nutrition animale, et ingéraient des proies volumineuses par la partie antérieure de leur corps qui était échancrée. Comme il s'agissait au commencement de nos observations d'individus parfaitement incolores, il était facile de les confondre au premier abord avec *Monas vivipara*, ou plutôt même avec *Oïcomonas ocellata* Scherffel.

Ayant fait un ensemencement sur un milieu de culture liquide à base de carottes, que nous possédions par hasard, nous eûmes la surprise de voir s'y développer rapidement de nombreux individus présentant une vague coloration verdâtre. Il était encore difficile de localiser cette coloration à cause de sa faible intensité, et du grand nombre d'inclusions réfringentes de toutes sortes dont était bourré le protoplasme, ce qui causait des phénomènes de diffraction préjudiciables à l'observation. C'est ainsi que la leucosine paraissait, à tort, imprégnée d'un pigment vert. Peu de jours après, nous pouvions nous expliquer ce phénomène en constatant nettement l'existence de chromatophores de forme discoïdale, assez aplatis, parfois plus ou moins gauchis, et colorés d'une teinte allant du vert jaunâtre au vert émeraude pâle. L'ensemble de la culture présentait une coloration vert olive très nette.

La forme que nous avons examinée ressemble sur plusieurs points aux dessins et aux descriptions concernant *Ochromonas mutabilis*, d'après Klebs et Pascher ; les analogies avec *Ochronomas granulosa* Meyer méritent également d'être mentionnées (1).

Si notre *Chlorochromonas* semble s'apparenter à l'*Ochromonas mutabilis* par les chromatophores et par l'aspect des vacuoles nourricières (*entre autres caractères*), il en diffère par la taille très sensiblement inférieure. D'un autre côté, s'il rappelle par son échancrure buccale très développée, et par son long prolongement caudal l'*Ochromonas granulosa*, il s'en distingue par ses chromatophores de grande taille.

Le *Chlorochromonas* que nous avons étudié se présente le plus souvent sous les trois aspects suivants :

1° Individus ovoïdes ou fusiformes et longuement caudés.

1. Voir : Pascher, Die Susswasserflora Deutschlands, Osterreichs, und der Schweiz.

2° Individus ovoïdes, ellipsoïdaux, sans queue.

3° Individus cylindroïdes, étroits, à queue très courte et fuyante.

Voici quelques données numériques auxquelles il est bon de ne pas attribuer une valeur absolue car les dimensions sont très variables dans cette espèce.

Longueur totale du corps, y compris la queue, de 5 à 25 μ. (En général de 9 à 22 μ. Nous avons rencontré de petits individus ovales, et sans queue, de 5 μ seulement dans une vieille culture en dégénérescence.)

Largeur. De 3 à 9,5 μ.

Longueur de la queue. Très variable, égale dans certains cas à la longueur du corps proprement dit.

Grand flagellum. Une fois à une fois et quart la longueur du corps.

Petit flagellum. Environ un quart à un cinquième de la longueur du grand flagellum.

Il existe des formes sans queue, généralement immobiles ou s'agitant en tournant sur place. D'autres individus possèdent au contraire plusieurs prolongements protoplasmiques postérieurs très déformables. D'ailleurs, de façon générale, le corps est toujours assez fortement métabolique, et surtout quand les individus sont soumis à une certaine pression, soit naturellement dans la vie en colonies denses (1), ou dans le développement à la surface de voiles bactériens, soit artificiellement par le desséchement progressif de la préparation. L'amoeboïsme est également très prononcé dans les cultures solides, où les individus se déplacent lentement dans la gélose (fig. I du texte). La forme normale du corps peut disparaître complètement, et réapparaître si l'on cesse d'exercer la pression, ou si l'on fait arriver un peu d'eau dans le cas d'existence en milieu so-

1. Il existe des agglomérations compactes, sortes de palmelles dans lesquelles les individus pressés les uns contre les autres ont un contour irrégulier plus ou moins polygonal.

lide. Des pseudopodes plus ou moins fins ou obtus sont enfin parfois émis en divers points du corps ; il n'est pas rare d'en observer au cours des divisions.

Le stigma n'est pas punctiforme comme dans l'*Ochromonas mutabilis*, mais au contraire assez volumineux ; il affecte souvent l'aspect d'une longue bandelette très amincie à une de ses extrémités et recouvrant plus ou moins complètement un côté d'un chromatophore. Il ressemble davantage à celui de l'*Ochromonas granulosa* qui est d'après Pascher « leistenartig vorspringend. »

Ce stigma peut subir des modifications de coloration

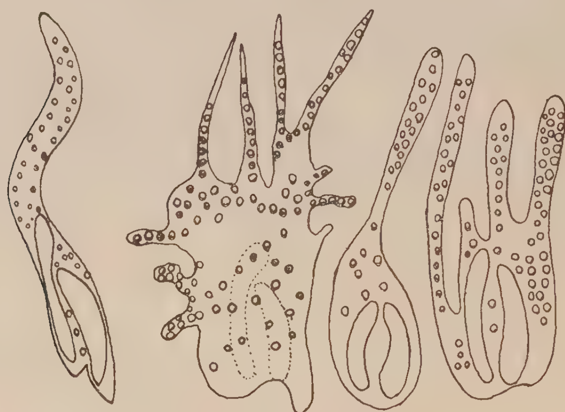


Fig. 1.

dont nous reparlerons. Le nombre normal des chromatophores est de deux, et si certains individus en possèdent quatre, c'est seulement par ce qu'ils vont se diviser ultérieurement. Klebs avait bien indiqué dans ses figures concernant *Ochromonas mutabilis* que les deux chromatophores ne sont pas situés à la même hauteur, mais nous ne croyons pas qu'il ait spécialement insisté sur ce point.

Lorsqu'il n'y a que deux chromatophores, on peut en distinguer un inférieur et un supérieur ; c'est toujours ce dernier qui est porteur du stigma. Le noyau se trouve placé entre les deux chromatophores. Enfin l'extrémité

supérieure du plaste porteur du stigma, et ce dernier par conséquent, sont en contact très étroit avec le bord interne de la grande lèvre de l'échancrure qui affecte assez profondément la partie antérieure des individus que nous avons observés. Etant donné cette orientation du stigma, on constate que les flagelles s'insèrent à sa droite. Il n'existe en général qu'une seule vacuole contractile, mais ce caractère est sujet à des variations.

A propos d'une espèce et d'un genre nouveaux de Chrysomonadinées qu'il a décrites, *Brehmiella chrysohydra*, Pascher fait allusion à une Ochromonadinée sp. qui ressemble assez à notre *Chlorochromonas*. Nous citons ce savant : *Eine eigenartige Rhiz.*, loc. cit., p. 234.

« Ich erwähne nur *O. granulosa* und — *O. tenera*, die nach Meyer sich gelegentlich anheften. Ich verweise ferner auf die von mir seinerzeit abgebildete *Ochromonas*, die sich in dichter Siedelung auf Algenfäden findet (fig. 7). Bemerkenwerter weise neigen diese festhaftenden Formen alle zu animalischer Ernährung, sei es, das sie lokalisiert mehr am Vorderende, sei es, das sie mit des grössten Teil ihrer Oberfläche mittels kleiner Pseudopodien die Nahrung aufnehmen. Ich verweise auf die (fig. 7). »

Nous ignorons où Pascher a signalé pour la première fois l'existence de cette nouvelle Ochromonadinée. D'autre part, dans la légende explicative de sa figure 7, ce savant la mentionne sous le nom d'*Ochromonas* sp. ce qui nous fait penser que sa diagnose n'a pas été donnée. Les individus dessinés par Pascher ressemblent beaucoup (à ne tenir compte que de la morphologie générale) à ceux que nous avons étudiés. Il semble bien en examinant la figure 7, qu'il y ait deux plastes, dont un porteur d'un stigma, et de la leucosine. Il est dommage que Pascher n'ait pas indiqué la coloration des chromatophores.

D'autre part, le point le plus délicat dans l'assimilation sans réserves de l'espèce que nous avons examinée à une véritable Chrysomonadinée, réside dans la question du

pigment. Dans les planches en couleurs des mémoires de Klebs et de Scherffel, les chromatophores des Ochromonadinées étudiées sont nettement jaunes. Ainsi dans l'organisme que nous décrivons, il ne s'agit sans doute pas seulement de chrysochrome, mais également de chlorophylle. C'est en vert et non en jaune qu'il faudrait représenter les chromatophores dans ce cas. Etant donné que le stigma peut facilement disparaître en se décolorant, on peut se demander ce qui différencie notre « pseudo » *Ochromonas* de certaines Hétérokontées comme celles appartenant au genre *Chlorochromonas* Lewis. Pascher a lui-même indiqué qu'il ne savait s'il fallait voir dans la forme décrite par Lewis sous le nom de *Chlorochromonas minuta* une Héterokontée ou une Chrysomonadinée.

A part la présence du stigma, les plus petits individus de notre espèce ressemblent tout à fait au *Chlorochromonas* Lewis.

Etant donné la taille beaucoup plus élevée et l'existence d'un stigma, nous sommes conduit à proposer une espèce nouvelle sous le nom de *Chlorochromonas polymorpha.*

Certes on pourrait voir dans une forme comme *Chlorochromonas polymorpha*, un terme de transition intéressant et spéculer sur les affinités des *Protomastiginae*, des *Chrysomonadinae* et des *Heterokontae*, mais notre intention n'est pas d'aborder de façon personnelle ces délicats problèmes de phylogénie.

L'hypothèse qui consiste à voir dans les Monadinées des Chrysomonadinées décolorées n'est pas neuve ; mais Scherffel a apporté des arguments intéressants à cette idée en montrant que les homologies que l'on peut relever entre les deux grands groupes se poursuivent jusque dans les anomalies. C'est ainsi que ce savant a figuré dans ses dessins un *Ochromonas* sp. (fig. 41) porteur de deux stigmas qu'il compare à un *Oïcomonas ocellata* accidentellement biocellé. La ressemblance entre les deux êtres est incon-

testablement très grande, mais on ne peut s'empêcher de se demander ce qu'est devenu le chromatophore.

La notion de la permanence du plastidome, et de sa transmission continue a tellement, et non sans raisons sérieuses, influé sur les esprits, qu'on hésite aujourd'hui à adhérer sans preuves suffisantes à une hypothèse nous faisant assister avec désinvolture à un phénomène d'évolution aussi important que celui de la transformation d'un organisme porteur de chromatophores en un organisme privé de ces éléments fondamentaux de la cellule. Personne ne peut nous faire grief de ce désir d'une plus grande précision. Les raisonnements des systématiciens à ce sujet reposent un peu sur le vide et le cytologiste aimerait à connaître, s'il existe, le mécanisme exact de la réduction des chromatophores. En effet, jusqu'à présent les auteurs ont parlé de Chrysomonadinées *décolorées*, ce qui est très vague, car un chromatophore, est-il besoin de le rappeler, devient aisément leucoplaste sans cesser d'exister pour cela (1). Nous avons nous-même rencontré maintes fois dans l'espèce que nous décrivons, des individus incolores, mais incontestablement porteurs de chromatophores dépigmentés. Nous fournirons d'ailleurs un peu plus loin quelques détails à ce sujet.

Nous donnerons maintenant quelques indications complémentaires concernant la cytologie de *Chlorochromonas polymorpha*. Le noyau est assez bien visible sur le vivant chez certains individus, ou du moins distingue-t-on la place qu'il occupe entre deux chromatophores. Les préparations permanentes montrent qu'il est nucléolé. Il n'est pas placé au milieu de la cellule, mais vers l'avant chez les individus

1. Rappelons que bien des organismes inférieurs soulèvent des problèmes du même ordre. Nous citerons, par exemple, les Chlamydomonadinées et les Eugléniens. P. Dangeard a décrit une variété incolore de l'*Euglena acus*, et a insisté sur le fait que cette forme possède néanmoins des plastes, et non un chondriome homogène. Selon la terminologie employée par Pascher, ce seraient non pas des organismes *apoplastides*, mais simplement *apochromatiques*.

fusiformes qui doivent être considérés comme le type de l'espèce.

Nous avons pu seulement, jusqu'à présent, trouver le stade ultime de la division, c'est-à-dire les deux individus allant se séparer et reliés par un trabécule de leucosine plus ou moins gros ou effilé. A ce moment le noyau a la forme d'un croissant dont la concavité regarde la partie antérieure de l'individu.

On peut par des fixations à l'osmium, au Flemming, au Regaud, au Bouin, par le mélange sublimé, bichromate, acide chromique, mettre en évidence un appareil neuro-moteur (fig. 22 et 23, Pl. XXI). Le noyau est placé très près de la surface du protoplasme. On distingue très nettement, après coloration de l'hématoxyline, à la fuchsine acide et au vert lumière, ou au violet gentiane, orange G, un point d'articulation des flagelles relativement gros.

Parfois on peut remarquer un fin empâtement de colorant joignant comme un pont le noyau au granule blépharoplastique, ou une petite formation conique qui ferait penser que le rhizoplaste, s'il existe, est constitué par une courte expansion du noyau qui possède une sorte de bec à sa partie supérieure.

En général il est difficile, sinon impossible, d'obtenir des différenciations telles que l'on puisse simultanément voir sur la même préparation le blépharoplaste, et les plastes. Ceci est très gênant si l'on veut éclaircir tout à fait les rapports qui semblent exister entre le stigma et l'insertion des flagelles. Sur le vivant, on pourrait en effet facilement s'y tromper et croire que c'est sur le stigma même, placé très en avant sur le chromatophore privilégié fortement décalé, que se fait cette insertion.

En laissant une préparation se dessécher lentement on arrive à comprimer fortement des individus entre lame et lamelle, si bien que l'on distingue alors parfaitement sur le vivant l'insertion des flagelles. Celle-ci se fait à droite du stigma.

C'est le flagelle le plus court qui s'insère le premier à partir du stigma, puis le plus long.

Ainsi c'est bien sur un blépharoplaste comme il fallait s'y attendre que s'insèrent les flagelles. Il est seulement curieux de signaler cette attraction vers le blépharoplaste qui se produit pour le stigma et par conséquent pour le chromatophore qui le porte. Dans les individus à deux stigma, le second stigma est moins coloré et peut indifféremment être orienté ou non vers le blépharoplaste.

Ces plastes sont des plaquettes plus ou moins discoïdes et incurvées, la partie concave regardant le noyau. On pourrait les croire en forme de bandelette, mais en les regardant attentivement on voit qu'il n'en est rien. Leur taille varie dans de larges limites ainsi que leur coloration, ceci sous l'influence de la nutrition, c'est-à-dire du milieu.

Nous avons obtenu certains repiquages sur bouillon de carotte absolument incolores. Ces cultures étaient riches en bactéries dont se nourrissaient les *Chlorochromonas*. Ceux-ci différaient d'ailleurs du type bien coloré par un stigma extrêmement pâle et parfois invisible. Enfin et surtout, sauf chez quelques individus privilégiés, on ne distinguait pas les chromatophores.

Ayant procédé à des fixations et des colorations par frottis, l'acide osmique et la triple coloration de Flemming ne permirent pas de les mettre en évidence. Une fixation au Regaud ou encore mieux au Bouin, montrèrent 2 à 4 leucoplastes discoïdes, plus petits que dans les individus normaux et plus rapprochés des noyaux que d'habitude. Ainsi dans les premières étapes de la décoloration tout au moins, les chromatophores ne disparaissent pas et deviennent seulement des leucoplastes. Certains aspects pourraient à tort être interprétés comme une différenciation en chondriosomes. Les disques entourent parfois complètement le noyau comme dans une coque et ressemblent à s'y méprendre à des bâtonnets arqués, quand on les voit de profil.

Dans la majorité des cas les chromatophores se transmettent évidemment d'un individu à l'autre, et l'on peut parler ici également de constance du plastidome. On voit les quatre chromatophores se répartir deux à deux pendant la division dans les deux cellules filles (fig. 8 à 12, Pl. XXI). Mais nous avons observé dans quelques cas des divisions anormales dans lesquelles le corps s'étire en deux masses inégales.

Nous ne savons trop quelle signification il faut donner à ces divisions anormales qui durent plus longtemps que les divisions régulières et paraissent se faire comme à regret après une série d'éloignements et de rapprochements des deux parties. Les fig. 13, 14, 15, 16, Pl. XXI, montrent de telles « divisions hésitation » si l'on peut dire. La compression due à la lamelle joue peut-être un rôle, mais quoi qu'il en soit les chromatophores sont inégalement répartis, soit qu'ils fassent défaut dans un des individus, soit qu'un d'entre eux en emporte trois sur quatre. Si les Chrysomonadinées donnent naissance aux Monadinées apoplastides, comme le pensent quelques savants, c'est peut-être par un processus analogue que se fait la réduction des chromatophores.

Formation du stigma. Dans la majorité des cas un des individus ne possède pas de stigma après la division, mais on peut rencontrer des individus à deux stigmas, qui après division, donnent naissance à des *Chlorochromonas* immédiatement porteurs de stigma.

Ces chromatophores paraissent avoir une structure plus fruste que les véritables plastes d'algues ou d'autres cryptogames chlorophylliens plus élevés en organisation.

Si l'on comprime ces chromatophores, il ne se produit pas en effet ce qui se passe avec un plaste. Un plaste de Muscinée ou d'Hépatique écrasé crève comme un sac et laisse échapper des granules d'amidon, des grains chlorophylliens, etc.

Ces chromatophores semblent semi-fluides, et plus résis-

tants à la compression, ils peuvent s'étaler en larges plaques.

Il est à noter que chez les individus fusiformes et mobiles, les chromatophores ont généralement l'aspect d'une bandelette. Bien que ces chromatophores soient des disques, on les voit rarement sous cet aspect sur le vivant alors qu'on en rencontre de nombreux discoïdes dans les préparations permanentes. D'autre part dans les préparations soumises à la compression de la lamelle par desséchement on rencontre plus souvent des chromatophores vus par la face. Pour expliquer ces observations, nous supposons que normalement les chromatophores s'orientent parallèlement à la direction des rayons lumineux.

Le chromatophore paraît en quelque sorte non seulement supporter le stigma qui s'y serait fixé, mais secréter réellement ce dernier. Le stigma prend naissance aux dépens d'une sécrétion du bord du chromatophore. Quelques individus possèdent deux stigmas (fig. 4. Pl. XXI) et étant donné que le stigma peut être considéré comme une sécrétion du chromatophore, tous les individus possèdent sans doute en puissance deux ou plusieurs stigmas. Au moment de la division, un seul des deux individus possède en général un stigma. Dans quelques cas rares, on trouve les deux parties de la figure de division porteuses d'un stigma. Le plus fréquemment l'individu non ocellé provenant de la division paraît reformer son stigma *de novo* à partir d'une différenciation d'un des chromatophores. La proximité du chromatophore porteur de la bandelette carotinienne et de l'appareil neuro-moteur permet peut-être d'émettre une hypothèse sur le rôle de ce dernier dans la sécrétion du stigma.

La bandelette imprégnée de carotine que l'on trouve sur un ou plusieurs chromatophores de notre *Chlorochromonas*, et de beaucoup d'Ochromonadinées doit-elle être considérée comme un stigma *sensu stricto* c'est-à-dire comme un organe indépendant servant à la réception d'impres-

sions lumineuses ? Peut-on homologuer cette bandelette à un stigma bien connu comme celui des Euglènes ? Sa variabilité beaucoup plus grande que chez les Eugléniens permet de laisser subsister quelques doutes à ce sujet.

Certains auteurs voient nécessairement une relation entre le stigma et le chromatophore en tant qu'*appareil assimilateur*. Ceci n'est pas prouvé. Nous citons Pascher à ce sujet : « Von den meisten Autoren (Rothert, Scherffel) wird das Stigma als ein teil des Assimilations apparates, als Plastide Aufgefasst ». Toujours d'après cette conception, le stigma serait un « rest des reduzierten Chromatophorenapparates. » (1). Nous avons observé dans les différentes cultures que nous avons faites (sur milieux variés, solides ou liquides) les destinées du stigma. Il nous a paru difficile de relier ou non la présence du stigma à l'activité assimilatrice des chromatophores. Dans une culture maintenue à l'obscurité pendant 10 jours et où les individus avaient des chromatophores décolorés, les stigmas étaient demeurés assez bien colorés. Dans certaines cultures à la lumière et sur milieu solide, le stigma était complètement décoloré et même absolument invisible, ou au contraire visible. Enfin dans une même culture, on rencontre des variations individuelles considérables, certains individus possédant un stigma, deux, ou pas du tout.

Enfin, bien qu'ayant enregistré dans une culture sur milieu solide la décoloration du stigma, nous ne tirons aucune conclusion, le même phénomène pouvant se produire spontanément.

Ainsi rien ne prouve à l'heure actuelle, bien que cette opinion s'imprime souvent, que le stigma de *Monas vivipara*, ou celui d'*Oïcomonas ocellata*, soit un résidu du chro-

1. Si vraiment la bandelette chromatique des Chlorochromonadinées est un véritable stigma, il est douteux que cet appareil puisse être assimilé au parabasal, comme le soutient une théorie relative aux Euglènes. C'est au contraire un argument en faveur de l'hypothèse qui considère le stigma comme un chromoplaste spécialisé.

matophore d'une Ochromonadinée ou d'une Chlorochromonadinée.

Vacuome (figures Planche XXII). — Il est très facile de colorer vitalement les *Chlorochromonas*. Les deux colorants qui nous ont donné les meilleurs résultats sont le rouge neutre et la chrysoïdine. De nombreux éléments du cytoplasme s'imprégnent de colorants vitaux, si bien qu'il est très malaisé de faire le départ de ce qui relève du vacuome proprement dit et de ce qui lui est étranger. Il est très difficile d'identifier avec certitude au vacuome une des nombreuses formations colorées que l'on trouve dans le cytoplasme et une seule. Nous sommes loin de la simplicité offerte à cet égard par les cryptogames et les végétaux supérieurs où le vacuome peut être identifié avec certitude.

M. P. A. Dangeard dans une étude consacrée au vacuome des organismes inférieurs, a insisté sur les difficultés inhérentes dans ce cas à l'étude de cet appareil.

Le problème est aussi malaisé à résoudre pour le protistologue que pour le zoologiste, et sans doute ce dernier emploie-t-il plus d'une fois à tort le terme de vacuome pour désigner certaines formations s'imprégnant par les colorants vitaux.

Les vacuoles digestives renferment des inclusions alimentaires récentes ou d'anciens déchets adsorbant énergiquement les colorants vitaux. En outre on peut y faire apparaître des précipitations présentant l'aspect des endochromidies ordinaires. A côté des grandes vacuoles digestives on peut trouver, quoique plus rarement, des vacuoles plus petites ne renfermant pas d'inclusions alimentaires. Elles peuvent se colorer en rose pâle par le rouge neutre et laisser précipiter également des endochromidies. Leur signification est douteuse. Représentent-elles des sortes de vacuoles digestives d'attente dans lesquelles les proies ingérées pourront trouver place, ou au contraire des vacuoles digestives à la phase ultime de digestion, lorsque les

enclaves ont été dissoutes et assimilées ? On ne peut que poser des questions à cet égard, sans pouvoir les résoudre. Le rouge neutre fait apparaître au bout d'un certain temps des précipitations au sein du cytoplasme. Ces précipitations ne paraissent pas être contenues dans des vacuoles et on les voit souvent se mouler autour de diverses enclaves cytoplasmiques et épouser leur forme. Leur origine est obscure. Prennent-elles directement naissance dans le protoplasme ; représentent-elles des chromidies ou proviennent-elles de métachromatine expulsée des vacuoles comme cela se produit dans certains cas ?

Il faut noter que ces précipitations cytoplasmiques de colorants vitaux ne sont pas toujours dispersées au hasard dans le cytoplasme, mais souvent groupées régulièrement d'un seul côté du corps des individus.

Il existe enfin dans le cytoplasme d'autres éléments susceptibles de se colorer. Ce sont des formations parfois minuscules, parfois très volumineuses, représentées par des sphérules, ou de grands bâtonnets, très réfringents, (beaucoup plus que la leucosine, c'est-à-dire à peu près comme des éléments de l'ergastome) et incolores ; il ne faut pas les confondre avec d'autres globules réfringents dont l'abondance est très variable et qui appartiennent certainement à l'ergastome. Au premier examen on les assimile à des corps gras ou oléagineux, mais on est surpris par le fait qu'ils retiennent énergiquement les colorants vitaux. L'acide osmique agissant même pendant plusieurs jours ne les fait foncer que faiblement, et on n'a ainsi aucune sûreté au sujet de leur composition.

On objectera qu'il devrait être aisé d'obtenir une certitude par l'action comparative des divers fixateurs. Malheureusement tous les individus ne renferment pas de ces corps réfringents avides de colorants vitaux. On rencontre bien, après l'action du Regaud ou du Bouin, c'est-à-dire de fixateurs ne conservant pas les substances grasses ou oléagineuses, des corpuscules colorables en noir par

l'hématoxyline, mais il est difficile de les assimiler avec sûreté aux inclusions précédentes ; d'autre part, on remarque, qu'après l'action de ces fixateurs, le protoplasme est criblé d'une grande quantité de vacuoles.

Bien que n'ayant pas fait l'étude microchimique de ces inclusions dont la nature est provisoirement aussi énigmatique que celle de la leucosine, nous nous permettons simplement de dire, en restant dans un domaine purement descriptif, qu'il est malaisé de voir dans ces inclusions parfois très nombreuses autre chose qu'une substance de réserve. Ses relations avec le vacuome proprement dit, ou son indépendance vis-à-vis de ce dernier restent à être démontrées. Ces inclusions réfringentes deviennent parfois tellement abondantes que l'individu doit en souffrir et semble dégénérer. La réfringence est très variable et les plus gros corpuscules diffèrent souvent peu ou pas de vacuoles ordinaires, si bien qu'on pourrait trouver des transitions entre les deux systèmes.

Nutrition animale (fig. 17, 18, 19, 20. Pl. XXII). — La nutrition animale est très développée chez *Chlorochromonas polymorpha*. Une grosse levure se développait généralement dans nos cultures et les *Chlorochromonas* en faisaient leur proie. La nutrition se produit ainsi : on voit soudainement une levure située à 3 à 5 μ d'un individu entrer soudain dans une vive giration pendant quelques secondes sous l'influence des flagelles. En même temps, par ce mouvement, la levure se rapproche du ravisseur. A ce moment un petit cylindre protoplasmique à parois très minces se forme aux dépens de l'échancrure antérieure du corps. Ce cylindre va au devant de la cellule de levure qui s'y engage. On voit alors la rotation persister une seconde et les bords libres du cylindre protoplasmique se refermer comme des lèvres en se rejoignant par un fin manteau de protoplasme d'une extrême minceur dont on peut suivre la progression.

Il faut bien noter que, dans ce premier temps, la proie

absorbée ne pénètre pas dans l'intérieur du corps, mais que c'est ce dernier qui circonscrit à l'extérieur une cavité la renfermant. Ensuite, très rapidement d'ailleurs, en une demi à une minute, la vacuole digestive de préhension rentre dans le protoplasme.

Il faut noter que la digestion commence pratiquement instantanément dès l'instant où le manteau protoplasmique a complètement englobé la proie. Tant qu'un orifice demeure en communication avec l'extérieur, la levure reste intacte, dès qu'il se ferme celle-ci meurt, et on voit en effet les phénomènes de plasmolyse se produire aussitôt à l'intérieur. La diffusion des diastases du protoplasme vers la vacuole digestive est donc extrêmement rapide.

L'observation de nombreux actes de nutrition nous a montré que l'on peut souvent distinguer dans le corps du *C. polymorpha* une zone digestive très nette située du côté du corps, correspondant à la petite lèvre de l'échancrure antérieure.

Ces *Chlorochromonas* sont de véritables « Gargantuas » et ingèrent souvent des proies plus volumineuses qu'eux. Nous avons fréquemment rencontré en particulier des individus s'attaquant à des *Polytoma* (fig. 10 et 22. Pl. XXII) de grande taille, et réussissant à les englober et à les digérer complètement. L'excès de nutrition animale se traduit par un aspect vésiculeux des individus abondamment nourris chez qui le protoplasme est refoulé à la périphérie et dans une calotte arquée autour d'une vacuole digestive énorme et unique. Cette vacuole a des parois extrêmement distendues ; ainsi par exemple, pour un individu de 9,6 μ de diamètre, la calotte de protoplasme contenant noyau, plastes, leucosine, n'a qu'une épaisseur maxima de 2,4 μ.

Signalons enfin, qu'il n'est pas rare de rencontrer des individus en division possédant de grandes vacuoles digestives.

Leucosine (figures Pl. XXII). — La leucosine est très souvent abondamment représentée dans notre *Chlorochromonas*

par des vacuoles plus ou moins réfringentes ; elle n'est pas conservée par les fixateurs usuels et apparaît dans les préparations permanentes sous l'aspect de lacunes claires achromatiques. Cette substance correspond évidemment à la leucosine déjà décrite chez d'autres Hétérokontées, chez les Chrysomonadinées et chez diverses Protomastiginées. La leucosine se partage régulièrement entre les deux individus pendant la division, elle ne prend pas les colorants vitaux. Cette substance joue-t-elle le rôle de réserve ou de déchet ? Quoi qu'il en soit l'état et l'abondance de la leucosine sont un miroir exact des phénomènes nutritifs. Lorsqu'on fait appel aux données de la bibliographie, on se rend compte que la composition de la leucosine reste encore très mystérieuse, mais qu'elle joue un rôle important dans la physiologie de ces organismes inférieurs.

On rencontre très souvent dans les *Chlorochromonas*, dans des conditions difficiles à préciser, mais dépendant de l'influence du milieu, des individus où l'on ne voit pas de leucosine à proprement parler, mais des sortes de vacuoles à cristalloïdes et à très fins granules mobiles. Ces sortes de vacuoles peuvent prendre les colorants vitaux. Nous ne pensons pas qu'on puisse les homologuer à des vacuoles digestives contenant des résidus. Par leur emplacement et leur taille, ces vacuoles à cristalloïdes semblent correspondre à la leucosine invisible chez ces individus. Il se peut, ce n'est qu'une hypothèse, que ces vacuoles à cristalloïdes représentent précisément des stades d'utilisation ou de transformation de la leucosine.

Action du milieu sur Chlorochromonas polymorpha (figures Pl. XXIII). — Nous avons observé des différences assez considérables dans l'aspect et la structure de *Chlorochromonas polymorpha* entre les individus poussant sur divers milieux (milieu naturel, bouillon de carotte, infusion de paille, liquide de Knop, milieu solide à base de carottes (1)). Par-

1. Il s'agissait de cultures *unialgales* renfermant toujours une bactérie et une levure.

fois d'ailleurs dans une même culture on pouvait trouver des variations assez considérables entre individus végétant en surface et en profondeur. Il faudrait naturellement une étude toute spéciale pour indiquer exactement le déterminisme de ces variations, aussi nous rapporterons ici seulement quelques faits assez curieux que nous avons remarqués dans une culture sur gélose à la carotte. Cette culture faite en boîte de Roux fut examinée au bout de 21 jours. Une seule petite colonie d'environ 3 millimètres carrés de superficie s'était développée ; elle provenait d'ailleurs d'un ensemencement fait à partir d'un milieu également solide. Cette culture n'était pas pure, mais renfermait des bactéries et surtout de très nombreuses levures. Les individus sphériques ou ovoïdes paraissaient être naturellement immobiles dans la gélose, et ne renfermaient jamais d'inclusions alimentaires. Le milieu solide avait donc pour effet, comme il fallait s'y attendre, de supprimer la nutrition animale en ralentissant les mouvements à l'extrême. Les chromatophores étaient assez difficilement visibles et presqu'incolores ; généralement le stigma trop peu coloré n'était pas discernable. La nutrition était donc très probablement saprophyte dans ce cas.

Mais ce qui caractérisait surtout ces individus c'était leur richesse en leucosine.

Mis dans l'eau ils conservaient tout d'abord leur aspect globuleux, manifestaient un amoeboïsme considérable, et agitaient leurs flagelles d'abord lentement puis de plus en plus vite. (Dans toutes nos cultures sur milieux solides, les *Chlorochromonas* conservaient leurs flagelles et reprenaient rapidement leur forme et leur mobilité normales après immersion dans l'eau.) Ce n'est cependant qu'au bout de trois quarts d'heure environ que nous constatâmes la présence d'individus caudés ayant acquis un aspect à peu près normal.

Nous fûmes étonné dès la première préparation extemporanée concernant cette culture, par la présence d'un

grand nombre de figures de divisions. Une si grande abondance de divisions contrastait étrangement, d'une part avec l'aspect chétif de la colonie, qui aurait dû être beaucoup plus développée à un pareil taux de multiplication, d'autre part avec l'aspect sénescent des individus gorgés de leucosine. En effet certains de ces individus étaient constitués par une énorme sphère de leucosine et le protoplasma était réduit à une mince couche. C'était une véritable dégénérescence causée par un déréglement de la nutrition.

Ce phénomène de dégénérescence par abondance de leucosine s'apparente aux faits signalés par M. P. A. Dangeard dans la zoospore de l'*Anthophysa vegetans*, Stein. La leucosine devient tellement abondante dans ce cas, qu'elle entraîne la mort de l'individu ; la présence de ces grosses masses de leucosine serait en relation avec l'existence de grandes quantités d'hydrates de carbone dans le milieu.

Une observation prolongée des nombreux stades ultimes de division que nous avions sous les yeux nous montra qu'ils ne donnaient généralement pas naissance à deux individus. Les sortes d'haltères constituées par deux individus frères réunis par un gros trabécule de leucosine demeurèrent sans changer d'aspect pendant plus d'une heure.

En réalité dans des conditions normales, la séparation des individus au dernier stade de la division doit survenir rapidement en 2 à 5 minutes. A quoi était dû ce retard considérable et même cet empêchement complet dans certains cas ? A la vie dans un milieu à la gélose plus visqueux que le milieu naturel, à la grande abondance d'une leucosine très dense qui freinait la séparation des individus, enfin à une sorte d'épuisement organique, ou à toutes ces causes réunies ?

Antérieurement à ces observations, nous avions également remarqué des faits anormaux dans des milieux

liquides où les *Chlorochromonas* végétaient péniblement dans de mauvaises conditions, en compagnie de nombreuses amibes et bactéries. Nous avions en effet rencontré : 1° de rares individus accolés étroitement deux à deux et présentant des mouvements amoeboïdes ; 2° des individus doubles et allongés présentant l'aspect d'une division. Ces derniers ne semblaient guère pressés de se séparer en deux masses distinctes comme dans une division ordinaire. On les voyait au contraire s'arquer fortement, rapprocher leurs parties, et se condenser finalement autour d'une masse centrale de leucosine. Au bout de 50 minutes, la division n'était pas survenue. Notons l'émission fréquente de très longs rhizopodes pouvant atteindre 3 à 5 fois la longueur du corps. Nous ne pensons pas qu'il s'agisse là de phénomènes sexuels mais plutôt de divisions abortives. Mais dira-t-on, ces divisions abortives doivent donner naissance à des monstruosités. C'est précisément ce que nous avons observé dans la culture solide dont nous avons parlé un peu plus haut.

Nous y avons rencontré de nombreux individus binucléés 2 fois plus volumineux que d'habitude, dans laquelle tous les organes étaient doublés. On pourrait nous objecter qu'il n'y a pas lieu de s'en étonner, les phénomènes de division étant seulement très ralentis, si nous n'avions constaté l'existence de véritables cellules énergides renfermant de 3 à 5 noyaux et autant de paires de flagelles. Dans ces individus monstrueux le nombre des vacuoles contractiles très volumineuses. était généralement le double de celui des noyaux. Ces individus multiples bourrés de leucosine et souvent porteurs d'un nombre de chromatophores insolite étaient largement amoeboïdes et émettaient des pseudopodes très allongés. Notons en passant qu'ils conservaient ou non leurs flagelles.

Résumé des caractères de *Chlorochromonas polymorpha.*

Corps très métabolique, fusiforme et longuement caudé,

ou ellipsoïdal et sans queue, ou cylindrique à queue très courte et fuyante.

Normalement deux chromatophores situés à la partie antérieure du corps (4 avant les divisions). Généralement un chromatophore supérieur porteur d'une plaquette ou d'une bandelette colorée en rouge brun. (Plus rarement sur les deux chromatophores (stigma).) Noyau situé entre les chromatophores. Blépharoplaste. 2 flagelles très inégaux. Grand flagelle : une fois à une fois un quart la longueur du corps. Petit flagelle : quart au cinquième de la longueur du grand flagelle. Leucosine, nombreux corpuscules réfringents colorables par les colorants vitaux. Nutrition animale par la partie antérieure du corps fortement échancrée par deux lèvres inégales. Aspect et dimensions très variables (De 5 à 25 µ). Stigma parfois décoloré et invisible, chromatophores également parfois incolores, spontanément ou en cultures. Facilement cultivable sur milieux riches en hydrates de carbone. Grand polymorphisme.

Note ajoutée pendant l'impression. — Nous avons fait quelques observations nouvelles qui précisent un peu plus certains points traités dans ce travail. Les voici brièvement résumées.

L'identité des vacuoles cristaux et de la leucosine nous semble maintenant beaucoup plus probable. Ces deux formations occupent la même place et jouent le même rôle au cours des divisions.

Le mode de nutrition du *Chlorochromonas polymorpha* nous fait songer à celui du *Gyrophagus vorax*. Dangeard, récemment décrit. Les phénomènes de préhension des aliments sont identiques dans les deux cas et caractérisés par une rotation vive des corps ingérés et l'émission d'un manteau protoplasmique.

Nous avons fait de nombreuses observations concernant des individus végétant sur une mince pellicule de gélose en chambre humide. Déposés sur la gélose les

Chlorochromonas perdent aussitôt leur forme, ils s'aplatissent sous l'action des forces capillaires et prennent un aspect irrégulier. Devenus très amœboïdes, on les voit se déplacer avec une grande lenteur à la surface du film mince de gélose.

L'observation de ces individus aplatis est très instructive. Elle montre que ce changement permanent de forme imposé aux individus n'entrave en rien leur existence, et permet surtout de percevoir plus exactement tous les détails de l'organisation et d'assister à l'apparition de formes anormales.

Dans le cas de ces individus aplatis et amœboïdes, on peut très bien compter les chromatophores avec certitude, opération difficile avec des individus vivants normaux. Les chromatophores suivent l'aplatissement général du corps et se transforment en plaquettes irrégulières et déformables. Si le nombre normal des chromatophores est bien de deux comme nous l'indiquons dans la diagnose de cette espèce, il semble cependant qu'une très grande variation est possible. La division des chromatophores paraît être indépendante de la division des organismes ; ces derniers cessant de se multiplier dans certaines cultures peuvent renfermer 4 ou 5 chromatophores très distincts.

Il n'est pas rare de trouver des individus aplatis porteurs de 2 ou 3 vacuoles contractiles. S'il n'en existe qu'une en général, on peut quelquefois trouver autour de la vacuole contractile principale 1 ou 2 petites vacuoles accessoires se fusionnant très tôt avec la première. Ces petites vacuoles contractiles accessoires peuvent dans le cas des individus aplatis être isolées de la vacuole principale et acquérir ainsi un fonctionnement autonome.

La faible épaisseur de protoplasme permet d'autre part de distinguer avec certitude, dans le cas des individus incolores, ceux qui sont apoplastides de ceux qui sont simplement incolores.

Après un séjour de 48 heures seulement, en chambre humide sur gélose, on constate une assez forte proportion d'individus apoplastides et d'individus « *hyperplastides* » (s'il est permis de former ce néologisme) porteurs de 6 à 8 chromatophores.

Nous avions suggéré au cours de notre exposé que les formes apoplastides pouvaient prendre naissance par suite de divisions inégales comme celles que nous avions observées exceptionnellement. Cette hypothèse se vérifie si l'on tient compte de l'examen de nombreuses cultures sur milieu solide où les divisions hétéroplastiques sont fréquentes. L'apparition d'individus apoplastides par un tel mécanisme est un fait certain, il reste à savoir si ces êtres sont définitivement viables et susceptibles de donner naissance par multiplication à une descendance incolore ; en un mot si l'on assiste réellement à la naissance de nouvelles « *variétés stables* ».

Ainsi la réduction du plastidome n'a rien de mystérieux dans ce cas et il est impossible de voir dans de tels faits un argument à l'appui de l'hypothèse de Scherffel qui voit dans l'*Oïcomonas ocellata* une Ochromonadinée décolorée (1).

Les *Chlorochromonas* apoplastides n'ont d'ailleurs pas l' « air de famille », des véritables *Monas* plus turbulents, et il y a dans le comportement de ces deux catégories d'organismes un je ne sais quoi qui ne permet pas la confusion.

D'autre part, on rencontre nombre d'individus hyperplastides; il ne viendrait jamais à l'idée d'en faire une espèce nouvelle, ni même des *Chloramœba heteromorpha* sous prétexte qu'ils ont le même aspect (disparition du stigma).

En résumé, sous l'influence de facteurs absolument indépendants de la photosynthèse (Lumière), tels que la dessiccation qui modifie le rapport de la tension superficielle du protoplasme à celle du milieu, il peut apparaître

1. Stigma et chromatophore étant solidaires dans le cas de *Chlorochromonas polymorpha*.

des variétés d'individus porteurs d'un plus grand nombre de plastes ou apoplastides.

On conçoit que dans la nature de pareils phénomènes puissent se produire sur le bord des flaques d'eau ou dans les pores de la boue des mares en voie de dessèchement partiel.

Tout ceci ne veut pas dire que le mode de nutrition ne peut pas jouer un rôle dans l'apparition de caractères nouveaux concernant les chromatophores, mais indique qu'on aurait tort de vouloir systématiquement lui attribuer le monopole du «*primum movens* de pareilles variations.

L'extrait alcoolique du pigment de cette espèce, examiné au spectrographe, a montré l'existence d'une Bande I, de la chlorophylle, très caractéristique, et d'autre part, l'abondance des pigments carotinoïdes.

BIBLIOGRAPHIE

Klebs (G.). — Flagellatenstudien. II Teil. *Zeitschrift für wissenschaftl. Zoologie.* Bd. LV, Heft 2 u 3, 1892.

Dangeard (P. A.). — Etudes sur la structure et le développement des organismes inférieurs. *Le Botaniste*, sér. XI, 1910, p. 155.

Scherffel (A.). — Beitrag zur Kenntnis der Chrysomonadineen. *Archiv für Protistenkunde*, XXIIº Band., 1911, 299-344, Taf. XVI.

Pascher (A.). — Zur Auffassung der farblosen Flagellatenreihen. *Sonderabdr. aus den Berichten der Deut. Bot. Gesell.* Band., XXXIV, Heft 7., 1916, S. 440-447.

— Eine eigenartige rhizopodiale Flagellate. *Archiv für Protistenkunde*, LXIIIº Band., 1928, S. 227-240.

Dangeard (P. A.). — Notes de vacances sur les organismes inférieurs et la question du vacuome. *Le Botaniste*, série XXI, fascicule V et VI, 1929, p. 281-350.

Pascher (A.). — Eine Neue, stigmatisierte und phototaktische Amöbe. *Sonderdruck aus dem Biolog. Zentralb.* Bd. 50, Heft I, 1930.

Dangeard (P.). — Sur une Euglène incolore du groupe de l'*Euglena acus. Le Botaniste*, série XXII, fasc. I et II, avril 1930.

Pascher (A.). — Zur Verwandtschaft der Monadaceæ mit den Chrysomonaden : eine gehaüsebewohnende, farblose Chrysomonade. *Ann. de Protistologie*, vol. II, fasc. 4, mars 1930.

PLANCHES HORS TEXTE

PLANCHE XXI

Chlorochromonas polymorpha. Sp. nov.

1. — Individu cylindroïde à queue brève et fuyante.
2. — Individu fusiforme typique, longuement caudé.
3. — Individu cordiforme.
4. — Individu à deux stigmas.
5 et 7. — Individus très amœboïdes, à forme irrégulière.
6. — Individu avec un des deux plastes vu de face.
8. — Division normale et partage de la leucosine.
9, 10 et 11. — Emission de pseudopodes pendant la division.
12. — Division avec vacuoles nourricières dans les deux individus frères.
13. — Division anormale. Un des deux individus est très petit ; l'autre est « apoplastide ».
14, 15, 16. — Division anormale ; un des individus est plus petit ; répartition inégale des chromatophores.
17. — Division anormale, ralentie, (45 minutes sans aboutir) avec émission d'un pseudopode allongé.
18. — Individu à plusieurs prolongements postérieurs.
19 à 23. — Bouin ou Regaud, hématoxyline.
19 et 20. — Individus « apochromatiques », mais porteurs de chromatophores accolés au noyau.
21. — *Id.* Division. La lacune claire représente la leucosine.
22 et 23. — Les flagelles s'insèrent sur un blépharoplaste placé très près du noyau et relié à ce dernier par un petit pont chromatique représentant le rhizoplaste.

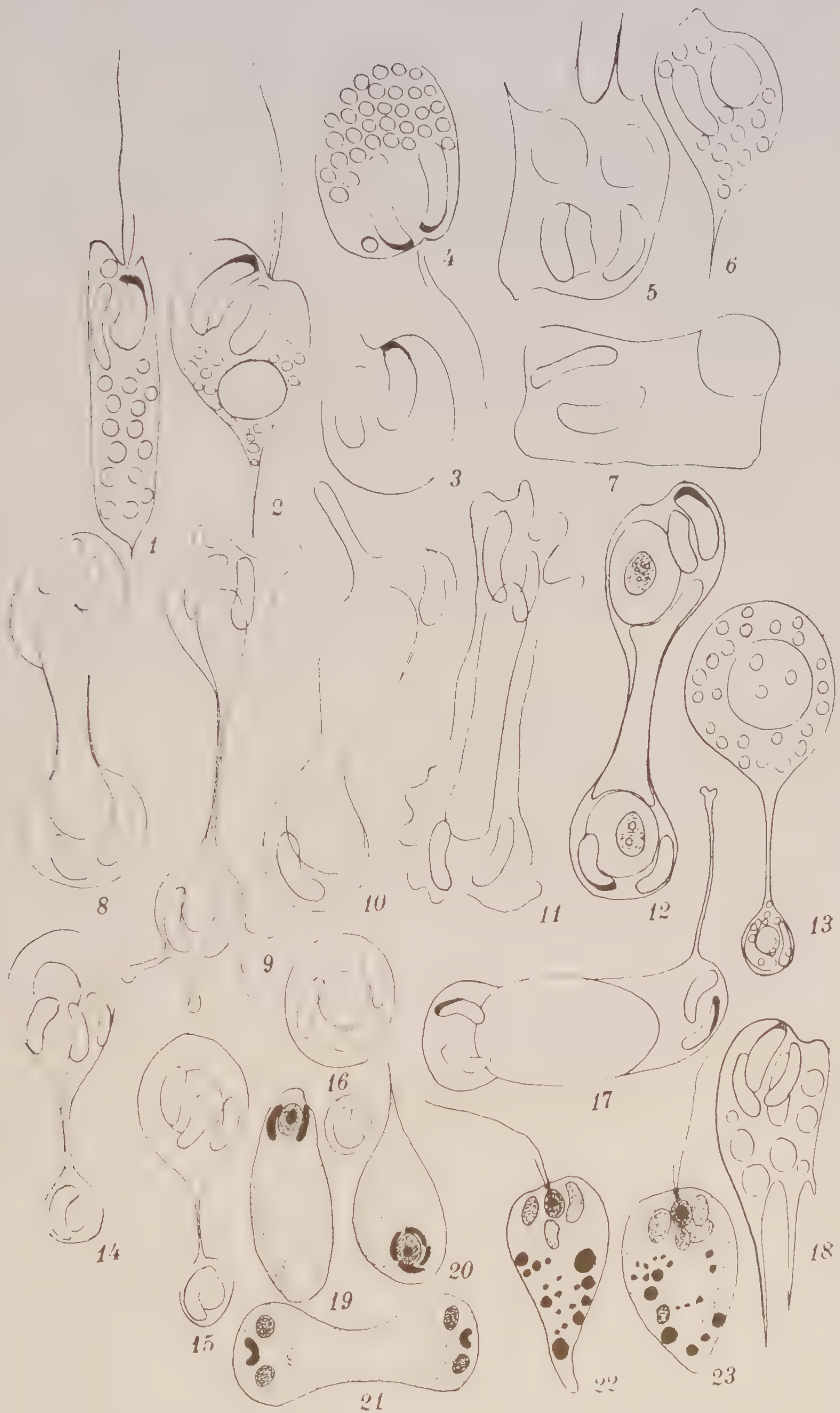

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
P. GAVAUDAN PINXT

PLANCHE XXII

Chlorochromonas polymorpha. Sp. nov.

Abréviations.

E : ergastome.
C : chromidies (précipitations cytoplasmiques de colorants vitaux.)
CR : chromatophores.
L : leucosine
S : stigma.
VC : vacuoles contractiles.
VN : vacuoles nourricières.
W : vacuoles à cristalloïdes .
GC : globules réfringents chromatiques.

Explication des figures.

1\. — Individu avec vacuole à cristalloïdes.
2 et 3.— Présence simultanée de chromidies et de gros globules réfringents chromophiles.
4\. — Individu bourré de gros globules de substance réfringente et chromophile.
5\. — Ergastome et chromidies.
6\. — La substance réfringente et chromophile affecte la forme de bandelettes allongées.
7\. — Individu avec vacuole à cristaux.
8 et 12. — Le même individu avant et après coloration vitale.
9\. — Nombreuses vacuoles nourricières et vacuole à cristalloïdes.
10\. — Individu venant d'ingérer un volumineux *Polytoma*.
11\. — Division ; leucosine criblée de cristalloïdes.
13\. — Vacuoles nourricières et chromidies.
14, 15, 16. — Individus apochromatiques; chromatophores non représentés.
17, 18, 19, 20. — Divers stades de la capture et de l'ingestion d'une levure par le *Chlorochromonas polymorpha* : remarquer l'émission d'un manteau cytoplasmique cylindroïde aux dépens de l'échancrure antérieure du corps et la formation de la vacuole nourricière à l'extérieur du corps.
21\. — Individu à plusieurs vacuoles nourricières.
22\. — Individu vésiculeux avec une très grande vacuole nourricière contenant un *Polytoma* en voie de digestion.

Nota. — Les flagelles ne sont pas représentés.



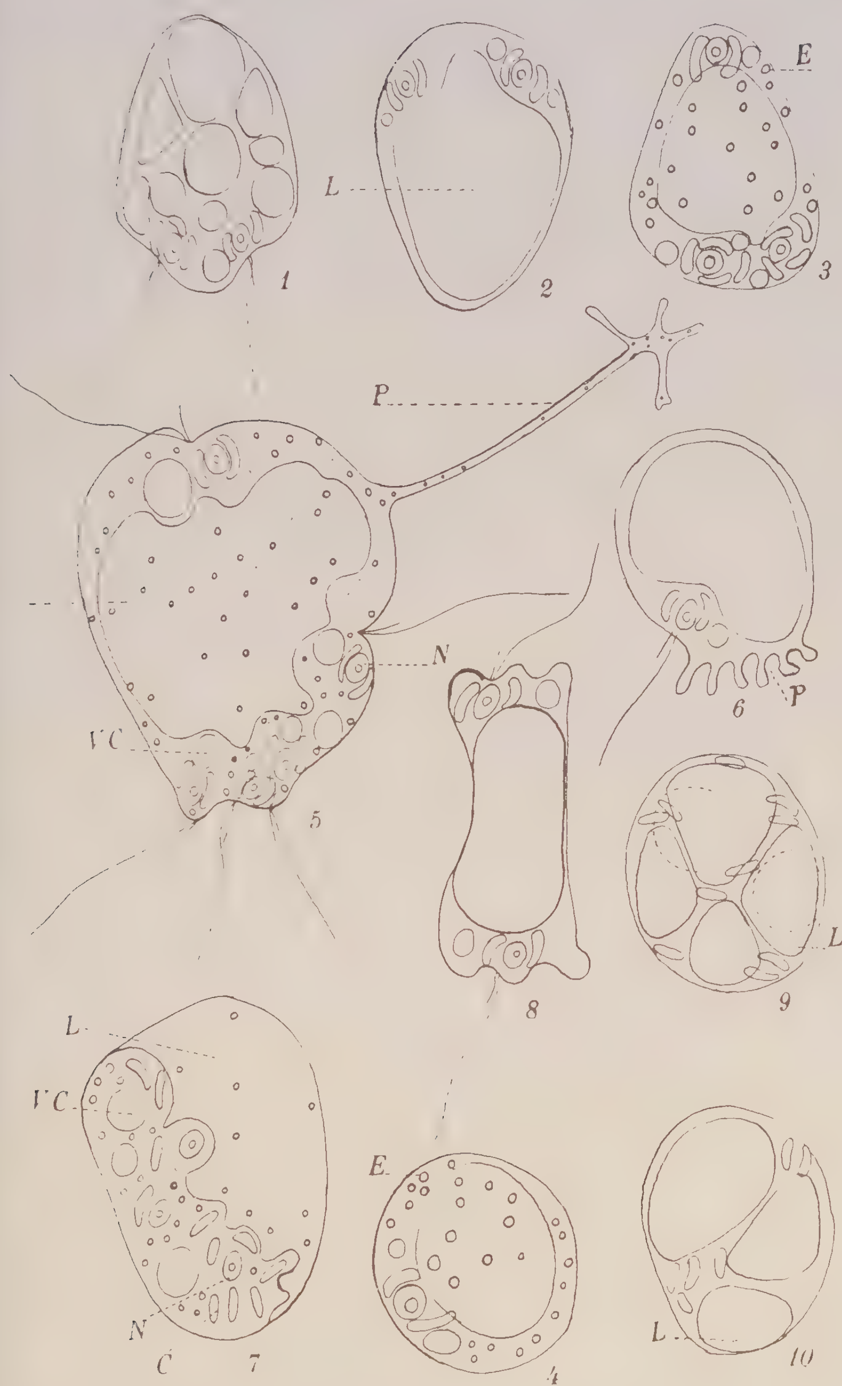
P. GAVAUDAN, PINXT.

PLANCHE XXIII

Chlorochromonas polymorpha. Sp. nov.

1 à 10. — Individus monstrueux provenant d'une culture sur milieu solide.

E : Ergastome.
L : Leucosine.
N : Noyaux.
C : Chromatophores.
V. C. : Vacuoles contractiles.
P : Pseudopodes.



P. GAVAUDAN, PINXT.

ÉTUDE SUR LES BACTÉRIES DES LÉGUMINEUSES

et Observations sur quelques Champignons parasites des Nodosités

par Mara LECHTOVA-TRNKA

PRÉFACE

Le travail que nous présentons est le résultat des recherches que nous poursuivons depuis quelques années au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne, sous la direction du professeur P. A. Dangeard.

Avant même d'exposer le plan que nous allons suivre, nous tenons à exprimer toute la gratitude et la reconnaissance que nous devons à ce Maître pour ses précieux conseils et surtout son inlassable bienveillance. Nous en sommes d'autant plus touchée car bien qu'étant étrangère, nous avons joui au même titre que les Français de l'agréable ambiance de ce Laboratoire et de l'obligeance de son Directeur. Nous remercions également notre Maître de l'aide matérielle qu'il nous accorde en acceptant de publier ce travail dans *Le Botaniste.*

Nos sentiments de gratitude vont aussi à la mémoire du professeur Mirande de la Faculté de Grenoble qui a beaucoup fait pour orienter nos études vers la Botanique.

Nous gardons un souvenir respectueux à notre Maître M. le professeur Dr St. Petkoff de l'Université de Sofia, qui nous a toujours encouragé dans notre travail.

Nous remercions M. Aug. Chevalier, professeur au Muséum, de l'obligeance qu'il nous a témoignée en nous

procurant un matériel intéressant et en mettant sa bibliothèque à notre disposition.

Nous sommes reconnaissante au Doyen de la Faculté de Clermont-Ferrand M. le professeur F. Moreau et à Mme Moreau, assistante, dont l'aimable hospitalité à la station biologique de Besse en Chandesse nous a permis de réunir quelques matériaux très précieux à notre travail et de passer un séjour agréable dans la montagne, tout en profitant des leçons de ces deux savants botanistes.

Nous tenons encore à remercier les assistants MM. Buchet et Pierre Dangeard qui nous firent profiter mainte fois de leur expérience du Laboratoire.

Enfin, les noms de nos camarades MM. R. Kuhner, R. Cazalas, P. Gavaudan et M. Clemencet, restent liés au meilleur souvenir que nous garderons du Laboratoire de la Sorbonne, où règne une agréable atmosphère de travail et d'amitié.

Une grande partie de notre matériel provient de la maison Vilmorin, dont nous remercions la direction pour l'accueil parfait qu'elle réserve aux travailleurs scientifiques.

INTRODUCTION

En 1926 M. P. A. Dangeard publiait un important mémoire sur les Tubercules radicaux des *Légumineuses* et mettait au point cette intéressante question où s'étaient introduites tant de notions erronées. Comme son étude portait plus spécialement sur des espèces herbacées appartenant uniquement aux *Papilionacées*, nous avons voulu continuer les mêmes recherches sur des espèces ligneuses appartenant aux trois grands sous-familles de *Légumineuses* : les *Papilionacées*, les *Caesalpiniées* et les *Mimosées*. Nous avons, cependant, dans notre matériel quelques échantillons herbacés, qui ont retenu notre attention, comme par exemple les tubercules d'*Arachis hypogaea* L. etc.

Dans notre étude nous avons suivi les relations qui s'établissent entre les Bactéries et l'hôte, les modifications qui se produisent dans les cellules envahies et l'évolution du microorganisme dans ces dernières. Dans ce travail, nous avons pu aborder ce problème si capital en Agronomie que présente la symbiose de certaines Bactéries fixatrices d'azote libre de l'air avec les racines des *Légumineuses*. En outre, nous avons décrit deux champignons qui se trouvaient également dans les tubercules.

Après l'historique de la question nous donnerons un bref aperçu de la structure d'un tubercule et nous rappellerons la terminologie des différentes parties qui le constituent. Ensuite dans un court chapitre nous ferons l'exposé sommaire de la technique que nous avons employée pendant nos recherches. La première partie de ce travail comprend la description des nodosités des différentes *Légumineuses*

que nous avons étudiées. Cet exposé est donné dans l'ordre systématique d'après la classification de TAUBERT in ENGLER UND PRANTL. Nous joignons même un tableau résumant la systématique des *Légumineuses* sur lequel nous avons souligné les sous-familles rentrant dans les cadres de nos recherches. La seconde partie est consacrée à la description de deux champignons que nous avons rencontrés dans les tubercules. Enfin nous terminons par les considérations générales et les conclusions.

HISTORIQUE

Les premiers auteurs qui ont mentionné la présence de tubercules sur les racines des *Papilionacées* et de certaines *Caesalpiniées* et *Mimosées* étaient loin de supposer que ces nodosités pouvaient être causées par un organisme étranger. L'idée que ce dernier fixait l'azote libre de l'air et permettait à la plante de se développer normalement, même dans des sols pauvres en matières organiques, était encore plus loin de leur pensée.

Dalechamp est peut-être le premier qui indique la présence des tubercules. Il les décrit sur *Ornithopus perpusillus* dans son « Histoire générale des Plantes » (1615, traduit par Moulins) ...« avec plusieurs racines esparses çà et là et cheveluës, toutes garnies de bossettes comme de nœuds durs et ronds... »

En 1687 Malpighi les considère dans son « Anatome plantarum » comme des galles, tout en étant peu sûr de cette définition car il n'a pas trouvé de piqûres d'insectes.

De Candolle (1825) les prend pour des excroissances de la racine « exosthoses charnues ».

Clos (1848) les considère comme des lenticelles sur les racines.

Gasparrini (1851) les assimile à des pointes de racines et leur donne le nom de : « *Tubercoli spongiolari* ».

Tréviranus (1853) ne voit dans ces productions globuleuses que des bourgeons imparfaits. Enfin ces formations sont considérées même par de Vries (1877), Tschirch (1887), Van Tieghem et Douliot (1888) comme des formes particulières de racines.

Donc, pendant une longue période de temps il n'y a rien

à noter au point de vue scientifique concernant les tubercules des *Légumineuses*. L'attention se porte seulement sur leur présence, et on fait des suppositions théoriques sur leur fonction et sur leur structure. L'opinion générale par conséquent a été que ces tubercules se forment sans aucune intervention d'un organisme quelconque. Cette période a été suivie de nombreux travaux dont l'objet était non seulement de prouver que les tubercules se formaient uniquement en présence d'un microorganisme, mais encore de se prononcer sur la nature de ce dernier. Les belles découvertes DE LAWES et GILBERT (1860) et surtout de HELLRIEGEL et WILLFARTH (qui ont pour point de départ la différence entre l'azote fourni et l'azote assimilé de certaines plantes) en montrant qu'il y a une relation entre les microorganismes des tubercules et l'assimilation de l'azote de l'air par les Légumineuses ont rendu la question de ces formations encore plus intéressante et les recherches sur ce sujet se multiplièrent.

WORONINE (1867) en étudiant les excroissances des racines d'*Alnus glutinosa* et les tubercules du Lupin trouva que ces deux formations sont produites par un organisme étranger. Dans l'Aune c'est un champignon qu'il nomme *Schinzia Alni* ; dans le Lupin ce sont des corpuscules ayant une longueur de 1,6 μ à 2,8 μ, et qui ressemblent aux *Bactéries*. Voilà comment il les décrit : « sous tous les rapports, ils ont la plus grande ressemblance avec ces organismes de nature douteuse, qu'on désigne sous le nom de : *Bactérium* Duj. ; *Vibrio* Ehrbg., *Zoogloea* Cohn, et l'on pourra sans violenter les analogies les ranger dans la même classe. »

Comme l'a bien remarqué M. P. A. DANGEARD : « *Ce savant, dès cette époque, avait entrevu une partie de la vérité* ».

ERIKSSON (1874) qui observe le premier les filaments muqueux (porteurs de Bactéries) et leurs renflements terminaux, ainsi que les formes ramifiées des bâtonnets,

conclut à une nature mycélienne du microorganisme des tubercules. Des travaux scientifiques des auteurs que nous allons citer plus bas, il ressort très nettement combien ces derniers ont été embarrassés devant les aspects aussi différents (filaments muqueux, bâtonnets, éléments ramifiés en forme de X, S ou Y) sous lesquels se présentent les Bactéries des *Légumineuses*.

PRILLIEUX (1879) admet que ces formes ramifiées sont des productions du filament muqueux qui n'est qu'un plasmodium, KNY les prend pour des spores d'un *Myxomycète*, et FRANK pour des corpuscules de provenance mycélienne.

BRUNCHORST (1885) sépare l'origine de ces deux formations, les filaments appartiennent à un champignon, tandis que les corpuscules ramifiés ne sont qu'une différenciation du protoplasme. C'est lui qui leur a donné le nom de « *Bactéroïdes* ».

Il y a eu aussi toute une controverse à propos des filaments muqueux. TSCHIRCH (1887) veut qu'ils soient aussi des différenciations protoplasmiques. PICHI et VUILLEMIN croient que les filaments ont des parois cellulosiques. Enfin FRANK en fait son « *Schinzia Leguminosarum* » et VUILLEMIN (1888) sont « *Cladochytrium tuberculorum* ».

Peu de temps après BEIJERINCK (1888) réussit à isoler le microorganisme des tubercules, un bâtonnet plus ou moins long et ramifié. Ces bâtonnets pénètrent par les poils de la racine à l'aide des « infectionschlauche ». FRANK publie de nouveau un travail sur la même question mais déjà il compare le microorganisme à un *Micrococcus* et l'appelle « *Rhizobium Leguminosarum* », tandis que MOORE l'identifie à un *Bacille* et lui donne le nom de « *Pseudomonas radicicola* ». Le travail de GINO DE ROSSI (1907) confirme la nature bactérienne du *Rhizobium*.

Une fois fixés sur la nature du microorganisme les savants se proposent de voir s'il s'agit d'une seule espèce de Bactérie qui infeste les tubercules radicaux, ou s'il y

a plusieurs espèces répondant chacune à un groupe de *Légumineuses*. De nombreuses recherches ont été faites dans cet ordre d'idées.

Enfin vient la période des expériences se rapportant à la possibilité d'une utilité pratique de ces microorganismes fixateurs d'azote. Citons les travaux de Mazé, de Bréal, Nobé, Moore etc.

Entre temps cependant Portier s'efforce à bouleverser tous ces résultats par sa théorie des symbiotes. D'après ce savant, les mitochondries des cellules en général ne sont que des Bactéries symbiotiques, et les Bactéries des *Légumineuses* des « mitochondries encore imparfaitement adaptées à la vie cellulaire et capables d'être séparées de l'élément qui les héberge : des protomitochondries, qui dans la suite des siècles, pourront subir progressivement une adaptation parfaite qui les rendra entièrement semblables aux mitochondries classiques ».

Après cet exposé sommaire on se rend à peine compte de toute la controverse qui a soulevé la question des Bactéries des *Légumineuses* que M. P. A. Dangeard a cherché d'élucider à son tour dans son important travail sur les tubercules radicaux des *Légumineuses*. Ce savant s'est arrêté longtemps sur l'anatomie des nodosités, sur la pénétration du filament muqueux dans les cellules hospitalières, sur l'évolution des Bactéries, les réactions des cellules envahies et de leurs noyaux etc. Il nous donne également une classification des différentes espèces de Bactéries qu'il a observées dans les tubercules radicaux. C'est dans ce sens que nous avons orienté nos propres recherches.

APERÇU GÉNÉRAL SUR LA STRUCTURE DES TUBERCULES RADICAUX ET LA TERMINOLOGIE QUI S'Y RAPPORTE.

Les nodosités qu'on trouve sur les racines et les radicelles des *Légumineuses* affectent souvent des formes très différentes : arrondies, ovoïdes, allongées, coralloïdes ou digitées. En laissant de côté toutes les fausses interprétations qui les représentent comme des galles ou des bourgeons etc. nous nous rallions à l'opinion des auteurs qui les considèrent comme des radicelles modifiées par la présence d'un microorganisme. Leur anatomie a fait objet des recherches de la part de Van Tieghem, Vuillemin et Laurent. Tout dernièrement M. P. A. Dangeard lui a consacré une large étude. Voilà comment il explique la naissance de ces nodosités : « *Ces formations apparaissent aux endroits où la Bactérie réussit à pénétrer par l'intermédiaire d'une zooglée d'un filament muqueux, à travers l'écorce d'une racine jusqu'au péricycle : l'excitation produite par la sécrétion ou la toxine bactérienne, détermine la prolifération des cellules péricycliques qui se comportent, tout au moins au début, comme s'il s'agissait de la production d'une véritable racine, mais la structure ultérieure du tubercule ne rappelle parfois que de très loin cette origine* »...

Au début du développement d'une radicelle, les tissus d'origine péricyclique donnent le cylindre central et l'écorce. Dans le cas d'un tubercule ils forment une masse parenchymateuse centrale, ou médulle, qui héberge le microorganisme et qui est entourée par quelques assises également parenchymateuses ou écorce du tubercule. Donc la médulle et l'écorce du tubercule sont formées par

des tissus d'origine péricyclique. La médulle comprend des cellules plus ou moins hypertrophiées contenant des Bactéries, ce sont les cellules spéciales, et des cellules indemnes d'infestation, mais souvent pleines d'amidon qui sont les cellules intermédiaires. La partie centrale du tubercule c'est-à-dire la médulle et l'écorce est entourée d'une première enveloppe appelée « voile », qui n'est qu'une extension de l'endoderme de la racine. Le voile correspond à la poche digestive que Van Tieghem a décrit pour les jeunes radicelles, mais il diffère cependant de cette formation en ce que la poche digestive est transitoire, tandis que le voile est une formation persistante. Enfin la dernière enveloppe, celle qui vient après le voile et qu'on nomme manteau n'est que le prolongement de l'écorce de la racine, dont les cellules se sont multipliées et ont persisté tout autour du tubercule. Dans l'écorce du tubercule se trouvent les faisceaux conducteurs de ce dernier. Van Tieghem considère les cordons libéraux-ligneux comme des stèles binaires, et le tubercule comme une radicelle polystélique, il ajoute aussi que l'un des deux faisceaux libériens tourné du côté de la périphérie du tubercule fait souvent défaut, et les faisceaux ligneux sont alors adossés au péricycle. Comme M. P. A. Dangeard le remarque, la prétendue stèle binaire se trouve réduite à un seul faisceau libérien, et le double faisceau ligneux n'est représenté que par un îlot de bois dans lequel il est tout à fait impossible de reconnaître deux pôles ligneux. Le même auteur conclut : « *En attendant la publication d'une étude anatomique d'ensemble de ces tubercules qui ne rentrait pas dans le plan de ce mémoire, il n'y a aucun inconvénient, semble-t-il, à désigner selon les cas, les cordons libéraux-ligneux sous le nom de faisceaux ou de stèles* ».

TERMINOLOGIE DES ÉLÉMENTS CELLULAIRES.

On sait que la théorie du Chondriome groupait indifféremment les éléments cellulaires, à part les noyaux, sous le nom de : Mitochondries, Chondriocontes ou Chondriomites. Les travaux classiques de M. P. A. Dangeard et de M. P. Dangeard ont montré que sous le nom de Chondriome ont confondait trois formations différentes : Plastidome, Cytome et Vacuome.

Le Plastidome comprend les plastes qui d'après leur forme peuvent être des Sphéroplastes, des Discoplastes ou des Mitoplastes.

Le Cytome est l'ensemble des Cytosomes (Mitochondries inactives des chondriosomistes) qui peuvent également être appelés Sphérosomes ou Mitosomes.

Le Vacuome réunit les vacuoles ordinaires et les vacuoles élémentaires ou métachromes. A la solution colloïdale des vacuoles (chromidium) susceptible de précipiter après l'emploi des fixateurs, le même auteur réserve le nom d'endochromidies.

TECHNIQUE

Nos observations ont porté presque exclusivement sur des échantillons fixés, inclus dans la paraffine et colorés suivant les méthodes histologiques usuelles.

Nous avons tenté quelques observations sur le vivant, mais notre matériel se prêtait peu à cette étude. Nous avons employé comme colorants vitaux : le rouge neutre, et le bleu de Crésyl.

A. — *FIXATION*

Nous avons expérimenté de nombreux fixateurs, nous citerons ici ceux qui nous ont donné les meilleurs résultats.

Liquide de Regaud :

Bichromate de potasse 3 %..	4 parties
Formol commercial à 40 %...	1 partie

Les objets restés 8 jours dans le Regaud, étaient changés tous les deux jours, après quoi ils étaient transportés pour deux semaines dans le bichromate de potasse à 3 %.

Ce fixateur nous a donné d'excellents résultats, et c'est celui que nous avons employé de préférence pour l'étude des Bactéries. En effet, la contraction des tissus étant négligeable le microorganisme conserve ses dimensions réelles.

Liquide de Bouin :

Acide picrique à saturation..............	70
Formol commercial à 40 %..............	25
Acide acétique.........................	5

Durée de la fixation 48 heures.

Les Bactéries subissent une notable contraction, mais ce fixateur nous a permis d'observer la structure des noyaux dans les cellules du méristème, ainsi que dans les autres cellules des tubercules.

Liquide de Flemming :

Acide osmique à 1 %............	1 partie
Acide chromique à 2 %...........	1 partie
Acide acétique	1 goutte

Durée de la fixation 36 heures.

Nous avons généralement évité l'emploi des mélanges osmiés, bien qu'ils donnent de bonnes fixations nucléaires, car les importantes précipitations qu'il provoque nuisent à l'observation des Bactéries.

Liquide de Nawaschin :

Acide chromique à 1 %..........	10 volumes
Formol commercial à 40 %........	4 volumes
Acide acétique....................	1 volume

Durée de la fixation 48 heures.

C'est un bon fixateur du noyau.

L'alcool absolu et surtout le formol dilué nous ont donné d'excellents résultats pour les éléments bactériens.

B. — *LAVAGE*

Toutes nos fixations, ont été suivies d'un lavage à l'eau courante pendant 24 heures, les objets étant renfermés dans des manchons en porcelaine perforée.

C — *COLORATION*

Notre colorant de choix a été l'Hématoxyline de Heidenhein avec mordançage et régression à l'Alun de fer

ammoniacal. Nous avons employé la formule suivante :

Hématoxyline cristallisée	1 gramme
Glycérine	10 cmc.
Alcool éthylique à 95°	10 cmc.
Eau distillée	80 cmc.

Les préparations étaient portées dans l'hématoxyline après un mordançage de 24 heures dans l'alun à 4 %. Elles restaient dans le colorant pendant au moins 24 heures également. Nous avons souvent combiné d'autres colorants à l'hématoxyline, par exemple la Safranine suivie d'une troisième coloration au Picro-indigo-carmin. Cette triple coloration donnait aux Bactéries une teinte brun-acajou très caractéristique.

Nous avons employé fréquemment la triple coloration de Flemming, même après fixation au Regaud. Elle nous a donné de très bonnes préparations, où les jeunes éléments bactériens se coloraient en violet, ceux qui étaient plus âgés prenaient la Safranine et les Bactéries en voie de digestion retenaient l'Orange G. Pour l'application de cette coloration nous avons suivi la méthode ci-dessous :

Les préparations sont mises dans :

1. La Safranine pendant une journée
2. lavage à alcool absolu puis à l'eau
3. Violet de Gentiane pendant 10 minutes
4. lavage à l'eau
5. Orange G. pendant quelques instants
6. lavage à alcool absolu
7. Différenciation à Essence de Girofle
8. lavage au Xylol.
9. montage au baume du Canada.

Enfin nous avons employé encore la double coloration : Fuchsine acide-Vert de Méthyle.

LEGUMINOSAE

Taubert in Engler und Prantl

MIMOSOIDEAE

1. *INGEAE.*
2. *ACACIEAE.*
3. *EUMIMOSEAE.*
4. *ADENANTHEREAE.*
5. *PIPTADENIEAE.*
6. *PARKIEAE.*

CAESALPINIOIDEAE

1. *DIMORPHANDREAE.*
2. *CYNOMETREAE.*
3. *AMHERSTIEAE.*
4. *BAUHINIEAE.*
5. *CASSIEAE.*
6. *KRAMERIEAE.*
7. *EUCAESALPINIEAE.*
8. *SCLEROLOBIEAE.*
9. *TOUNATEAE.*

PAPILIONATAE

1. *SOPHOREAE.*
2. *PODALYRIEAE.*
3. *GENISTEAE.*
   - *LIPARIINAE.*
   - *BOSSIAEINAE.*
   - *CROTALARIINAE.*
   - *SPARTIINAE.*
   - *CYTISINAE.*
4. *TRIFOLIEAE.*
5. *LOTEAE.*
6. *GALEGEAE.*
   - *INDIGOFERINAE.*
   - *PRORALIINAE.*
   - *BRONGNIARTIINAE.*
   - *TEPHROSIINAE.*
   - *ROBINIINAE.*
   - *COLUTEINAE.*
   - *ASTRAGALINAE.*
7. *HEDYSAREAE.*
   - *CORONILLINAE.*
   - *EUCHEDYSARINAE.*
   - *AESCHYNOMENINAE.*
   - *PATAGONIINAE.*
   - *STYLOSANTHINAE.*
   - *DESMODIINAE.*
8. *DALBERGIEAE.*
   - *PTEROCARPINAE.*
   - *LONCHOCARPINAE.*
   - *GEOFFRAEIINAE.*
   - *ANOMALAE.*
9. *VICIEAE.*
10. *PHASEOLEAE.*
    - *GLYCININAE.*
    - *ERYTHRININAE.*
    - *GALACTIINAE.*
    - *DIOCLEINAE.*
    - *CAJANINAE.*
    - *PHASEOLINAE.*

PREMIÈRE PARTIE

LEGUMINOSAE Jussieu.
(Taubert in Engler und Prantl.)

MIMOSOIDEAE

INGEAE

Albizzia Species.

L'*Albizzia* sp. dont nous avons étudié les tubercules était un grand arbre, très gracieux, qui poussait au jardin de la villa Thuret, presque au bord de la Méditerranée. Nous avons déterré une racine, dont les radicelles possédaient quelques nodosités saupoudrées d'une pruine blanchâtre. Les petits tubercules affectaient une forme globuleuse et les gros étaient plutôt lobés. Cette récolte a été effectué le 9 octobre 1930 et nous avons fixé ce matériel au Flemming et au Regaud. Nos préparations ont été colorées à l'Hématoxyline de Heidenhein, et par la triple coloration de Flemming.

Les coupes longitudinales et transversales ont la structure nettement caractéristique d'un tubercule de *Légumineuse*. Au centre, la médulle avec ses cellules spéciales et intermédiaires est entourée de quelques rangées de cellules parenchymateuses qui constituent l'écorce du tuber-

cule et indiquent la limite des tissus d'origine pericyclique. L'endoderme de la racine, qui prend une grande extension enveloppe la partie centrale du tubercule et forme ce que M. P. A. Dangeard appelle « le voile ». Les cellules de ce dernier contiennent de nombreuses précipitations de tanoïdes appartenant au vacuome. Enfin la dernière enveloppe du tubercule qui n'est qu'une extension de l'écorce de la racine et qui porte le nom de manteau est composée de quelques assises de cellules à membranes épaisses. Dans l'écorce du tubercule nous trouvons un certain nombre de faisceaux collatéraux à bois externe et à liber interne entourés d'un péricycle et d'un endoderme complet. Les cellules ligneuses se colorent en beau rose foncé par la safranine. Nous avons compté de 4 à 16 cellules ligneuses par faisceau.

Les tubercules d'*Abbizzia* présentent souvent des médulles secondaires ; c'est-à-dire que la médulle proprement dite est divisée en îlots par des rangées de cellules parenchymateuses qui la sillonnent. Ces cellules sont identiques à celles qui forment, comme nous l'avons indiqué plus haut, l'écorce du tubercule.

Certaines cellules spéciales subissent une forte hypertrophie. Ainsi, nous avons mesuré à côté de cellules hospitalières d'une longueur de 30 μ d'autres de 100 μ. Les cellules hypertrophiées les plus volumineuses possèdent une grande vacuole centrale ou 2 ou 3 plus petites. Leur noyau, également hypertrophié, a une structure réticulée et une membrane bien nette et chromatique. Dans les jeunes cellules envahies, son nucléole ne représente qu'une petite sphère très chromatique, alors que celui des cellules plus âgées bourgeonne et se désagrège petit à petit. Quand la Bactérie est presque entièrement digérée, le noyau est aussi complètement détruit et quelquefois il n'en persiste qu'une petite tache chromatique.

La forme initiale de la Bactérie est celle de courts bâtonnets qui après l'évolution subie dans la cellule hospita-

lière, deviennent plus allongés, plus gros, s'arrondissent, perdent peu à peu leur chromophilie et se vacuolisent. Après la digestion il ne reste du microorganisme qu'un amas amorphe et incolore. La plupart des Bactéries affectent au dernier stade de leur évolution la forme de petites sphères, mais souvent la digestion se produit avant et toutes les Bactéries ne se transforment pas en sphérules Pl. XXIV, Fig. 1).

Dans la médulle, à côté des cellules envahies, nous en trouvons d'autres beaucoup plus petites où la Bactérie n'a pas pénétré. Ces cellules, que nous appelons des cellules intermédiaires, possèdent quelques grains d'amidon et beaucoup de cytosomes. Ceux-ci sont facilement discernables lorsqu'une faible plasmolyse a détaché légèrement le protoplasme de la membrane cellulaire. Dans ce cas-là les cytosomes, placés à la périphérie, constituent un cercle limitant le cytoplasme. (Pl. XXIV, Fig. 2). Les cellules de l'écorce contiennent également des grains d'amidon simples et composés.

Les tubercules fixés au Regaud nous ont montré un aspect identique à celui des précédents fixés au Flemming. Même après fixation au Regaud la triple coloration (Safranine, Violet de Gentiane et Orange G.) nous a donné de magnifiques préparations. Le protoplasme se colore en jaune foncé et les Bactéries en rouge violacé, ce qui nous permet de définir très bien leur forme et leur taille. Le microorganisme, sous sa forme initiale, ne dépasse pas 1,2 μ, mais après l'évolution il atteint 3,5 μ.

Certaines cellules spéciales remplies entièrement par la Bactérie ne paraissent pas, à première vue, contenir de vacuoles ; dans ce cas-là nous apercevons parfois que la masse bactérienne est sillonnée de travées incolores et parallèles d'apparence vacuolaire (Pl. XXIV, Fig. 3). Quelquefois ces cellules spéciales, sans vacuoles, en grands, ilôts donnent l'impression d'une nappe de Bactéries.

Au sommet, de jeunes tubercules, nous avons remarqué le filament muqueux avec deux rangées de Bactéries très chromatiques (Pl. XXIV, Fig. 4).

Les cellules spéciales ne subissent pas seulement une grande hypertrophie, mais sont souvent très déformées (Pl. XXIV, Fig. 5).

Ici nous avons l'impression que l'hôte utilise bien les produits de la digestion des Bactéries et que la destruction du tubercule survient seulement après celle du microorganisme.

Nous signalerons encore que dans un des tubercules fixé au Flemming nous avons trouvé des filaments mycéliens qui pénétraient jusqu'à la médulle.

Albizzia Lebbek Benth (1).

Les fines radicelles portaient de petits renflements terminaux (Pl. XXIV, Fig. 6) qui n'avaient pas l'aspect de véritables tubercules. Le matériel a été fixé au Regaud. Ces renflements ont une structure cependant identique à celle des nodosités de toutes les *Légumineuses*.

La Bactérie évolue en donnant de gros bâtonnets recourbés et dilatés à une de ses extrémités, ou en sphérules plus ou moins régulières, après, ces formes se vacuolisent et sont digérées (Pl. XXIV, Fig. 7).

Il est important de noter que nous avons observé des Bactéries dans quelques cellules d'un faisceau. Nous avons pu voir très nettement ces Bactéries grâce à l'Hématoxyline suivie d'une coloration à la safranine et au picro-indigo-carmin. La Bactérie seule est colorée en rouge brun très caractéristique (Pl. XXIV, Fig. 8).

En un mot nous n'avons observé aucune différence avec les tubercules de l'espèce précédente d'*Albizzia* sp.

1. Arbre cultivé au jardin de Villa Thuret, Cap d'Antibes, A. M. Octobre 1930.

*
* *

Enterolobium Timbouva Mart.

Sur les radicelles d'un pied d'*Enterolobium Timbouva*, cultivé dans les serres du Muséum d'Histoire Naturelle, nous avons trouvé un seul tubercule, de forme ovoïde, que nous avons fixé au Regaud. Ce matériel était insuffisant pour une étude plus complète. Les cellules spéciales sont remplies de Bactéries en forme de bâtonnets courts et

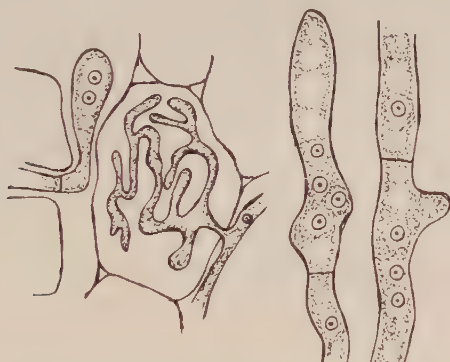


Fig. 1. — Filaments mycéliens inter et intra-cellulaires dans un tubercule *d'Enterolobium Timbouva Mart.*

fins. Ces organismes mesurent à peine 1,5 μ de longueur. La présence d'une grande quantité de filaments mycéliens compliquait l'étude de cet unique tubercule ; ces derniers le pénétraient un peu partout. Ils envahissaient des cellules entières en parcourant aussi les espaces intercellulaires. Certains filaments ont un diamètre de 3 à 4 μ, d'autres seulement 1,5 μ. Les noyaux à l'intérieur de ces hyphes sont très visibles (Fig. 1).

*
* *

Pithecolobium brevifolium Benth. (1).

Les racines étaient boursouflées de place en place. La fixation nous a montré qu'il ne s'agissait pas de véritables tubercules bactériens.

ACACIEAE

Un séjour sur la côte d'azur nous a permis de nous procurer une quantité de tubercules de différentes espèces d'*Acacia*, cultivées dans une pépinière à Fréjus. Ces arbres possédaient sur leurs racines et radicelles de nombreuses nodosités. La matériel a été récolté au mois d'août 1927 et à la même saison de l'année suivante. Nous avons employé plusieurs fixateurs.

Acacia Bynoeana Benth.

Nodosités fixées au Flemming. La médulle renferme des cellules spéciales et des cellules intermédiaires. Ces dernières sont plus nombreuses que les cellules hospitalières.

Les Bactéries occupent le centre de ces dernières et quelquefois sont réunies par petits groupes (Fig. 2). Mais souvent nous les trouvons même dans les espaces intercellulaires. La Bactérie sous sa forme initiale est représentée par un bâtonnet de 0,6 μ à peine, qu'on pourrait presque prendre pour un microcoque. Plus tard ce bâtonnet s'allonge et mesure 1,5 μ. Le noyau cellulaire s'hypertrophie et se trouve rapidement détruit.

Nous avons observé un phénomène assez intéressant

1. Jardin de Villa Thuret. Octobre 1930.

qui se rapporte au système conducteur de ces tubercules. Nous savons qu'ordinairement les faisceaux libéro-ligneux des tubercules des *Légumineuses* sont représentés par des faisceaux collatéraux à bois externe et à liber interne ; c'est pourquoi VAN TIEGHEM a considéré ces cordons comme des stèles binaires dans lesquelles il y a absence d'un faisceau libérien et où le bois se trouve externe. Ici, les cordons libéro-ligneux montrent dans un même tubercule des passages de faisceaux collatéraux à bois externe

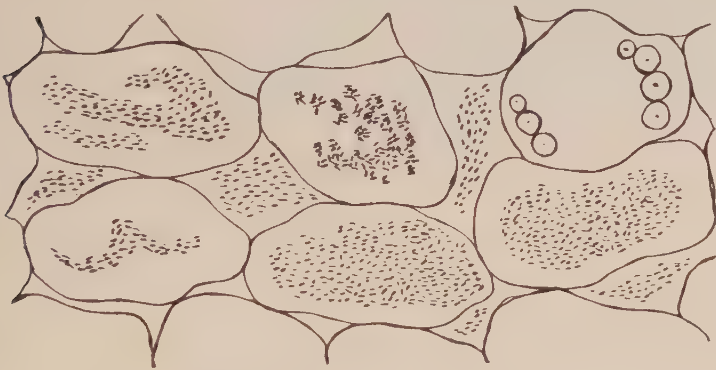


Fig. 2. — *Acacia Bynoeana* BENTH. Cellules spéciales d'un tubercule d'Acacia Bynoeana. Bactéries même dans les espaces intercellulaires.

et liber interne à faisceaux collatéraux à bois interne et liber externe, ainsi qu'à faisceaux concentriques.

Les faisceaux à bois interne et liber externe représentent déjà une exception assez rare et M. P. A. DANGEARD (63) la cite pour *Tetragonolobus siliquosus*. Ce savant a trouvé également dans les tubercules de *Sarothamnus scoparius* des passages d'une structure à l'autre dans les cordons libéro-ligneux, et voilà ce qu'il dit à ce sujet : « *L'écorce sur une coupe perpendiculaire à l'axe montre à partir de la base de deux à cinq cordons libéro-ligneux, dont les uns sont des faisceaux collatéraux à bois externe et dont les autres sont des stèles binaires* ».

Les cellules de l'endoderme formant le voile sont remplies de précipitations.

Première fixation au REGAUD effectuée en 1927. Nous avons obtenu de bonnes préparations. Dans la région du sommet du tubercule, là où se fait la contamination des jeunes cellules nous voyons que les Bactéries en y pénétrant se dirigent vers le noyau et l'entourent (Pl. XXIV, Fig. 9). Nous avons remarqué que ces microorganismes n'ont pas suivi la même évolution dans tous les tubercules.

Par exemple, dans un tubercule les Bactéries sont en longs et fins bâtonnets, et, dans un autre, ces organismes sont plus gros et moins allongés. On aperçoit aussi des rangées de 2 à 4 Bactéries. Dans les cellules de la zone postérieure où la digestion du parasite a eu lieu, nous trouvons quelques Bactéries qui persistent, mais qui ont un aspect particulier (Pl. XXIV, Fig. 10). Ce sont des virgules, des bâtonnets recourbés, des spirales d'un demi-tour, etc. Pouvons-nous assimiler ces formes aux *Bactéroïdes* qu'on décrit en général comme des Bactéries ramifiées ? Nous pensons que oui, car sous le nom de Bactéroides on peut inclure des formes dégénérées qui représentent pour certaines Bactéries le dernier stade avant leur complète digestion par les cellules hospitalières. Dans la zone moyenne une partie des cellules spéciales qui sont plus près du sommet du tubercule montrent de petites ou de grandes vacuoles centrales (Pl. XXIV, Fig. 11).

Le noyau s'hypertrophie, résiste et finalement est détruit par l'action des microorganismes. Souvent son nucléole montre un, deux ou trois bourgeonnements.

Deuxième fixation au REGAUD effectuée au mois d'août 1928.

Les tubercules étaient un peu plus volumineux que ceux de la première fixation. Dans les coupes on remarque des médulles secondaires, où la plus grande partie des membranes cellulaires est déchirée et détruite. On trouve une grande quantité de cellules intermédiaires et des cellules

spéciales dispersées fortement hypertrophiées. Enfin des Bactéries occupent parfois les espaces intercellulaires.

L'emploi de l'Hématoxyline et de la Safranine montre que les Bactéries à un stade avancé de leur évolution perdent leur chromophilie, ne prennent pas la Safranine et se teignent faiblement en gris par l'Hématoxyline, tandis que les jeunes Bactéries prennent la Safranine et se colorent en rouge foncé, ce qui nous permet de bien déterminer leur forme. Nous avons l'impression que la substance muqueuse du filament infestant est rapidement résorbée dès sa pénétration dans la cellule, car nous trouvons des groupes de Bactéries, qui ont perdu leur enveloppe muqueuse, mais leurs éléments ne sont pas encore dispersés (Pl. XXIV, Fig. 12). Les filaments muqueux ont ici encore cette particularité, c'est qu'ils sont extrêmement fins avec de petits renflements de place en place.

Fixation au Bouin.

Les tubercules examinés se présentent avec des médulles secondaires. Les cellules de l'écorce et les cellules intermédiaires contiennent une grande quantité de gros grains d'amidon. La Bactérie est initialement très petite, en évoluant elle devient un peu plus allongée. Chaque Bactérie possède un point très chromatique à l'une de ses extrémités et le reste du corps est clair, ce qui donne l'impression de petits points noirs réunis ensemble, que l'on peut prendre au premier abord pour des microcoques (Pl. XXIV, Fig. 13).

Fixation au Formol.

Nous sommes surpris de voir que le formol qui n'est pas en général un fixateur recommandable à l'état pur nous a donné d'excellents résultats. Les Bactéries ressortaient très bien dans les cellules hospitalières et prenaient fortement les colorants. Nous pouvons dire même qu'après cette fixation les Bactéries se dessinaient mieux surtout où elles avaient pris place. Le caractère que présentent les tubercules d'*Acacia Bynoeana* d'avoir des médulles

secondaires persiste toujours. Les cellules intermédiaires sont plus nombreuses que les cellules spéciales. Les cellules de l'écorce et les cellules intermédiaires sont remplies de gros grains d'amidon simples à hile central. Les cellules spéciales sont assez volumineuses et possèdent souvent une vacuole centrale entourée de Bactéries. Ces dernières sont de longs bâtonnets et mesurant jusqu'à 3 μ. Ils sont fortement colorés en noir par l'Hématoxyline. L'aspect très allongé de ces Bactéries est souvent dû au fait que ces organismes microscopiques sont disposés en chaînettes de 3 ou 4.

Le noyau présente des modifications très intéressantes. D'abord il s'hypertrophie notablement ainsi que son nucléole, puis ce dernier montre de 1 à 4 bourgeonnements à sa périphérie (Pl. XXIV, Fig. 14 et 15). Quelquefois ces bourgeonnements ont la forme d'un entonnoir microscopique (Pl. XXIV, Fig. 16). Lorsque la désagrégation du noyau est plus avancée nous remarquons que les Bactéries commencent à y pénétrer (Pl. XXIV, Fig, 14, 15 et 17). Dès ce moment il est condamné à disparaître complètement. En effet, dans la région de la base du tubercule, nous ne trouvons presque plus des cellules spéciales nucléées. Nous avons reproduit dans la Pl. XXIV, Fig. 18 un cas où le nucléole a quitté sa place par un effet mécanique et se trouve à l'extérieur de la membrane nucléaire. L'action mécanique n'a pas pu l'écraser, mais tout simplement le chasser de sa place.

L'observation d'une grande quantité de coupes appartenant à de nombreux tubercules, les aspects particuliers du noyau, nous permettent de conclure que la cellule se défend et réagit de différentes façons.

Nous savons qu'on peut diviser la médulle d'un tubercule en trois zones : zone basilaire, caractérisée par la digestion presque complète de la Bactérie et de l'amidon ; zone moyenne, présentant des cellules pleines de Bactéries qui ont atteint le point extrême de leur développement ;

enfin zone antérieure (celle qui est le plus près du sommet du tubercule) et qui est constituée par de petites cellules polyédriques où la Bactérie s'introduit petit à petit en entourant le noyau, et où nous sommes souvent en présence de filaments muqueux.

Dans ces tubercules on peut parler plutôt de deux zones : une zone antérieure, celle du sommet du tubercule, et une zone postérieure, celle de la base du tubercule. La troisième zone n'existe pour ainsi dire pas. La Bactérie montre une virulence excessive et nous n'avons pas trouvé dans les cellules hospitalières ni digestion du parasite, ni diminution de sa chromophilie. Et lorsque les tissus de la plante qui ont lutté contre l'envahisseur deviennent incapables de résister davantage, le tubercule détruit apporte à la terre une forte quantité de Bactéries.

Fixation au Sublimé.

Les tubercules fixés au Sublimé n'atteignaient pas un demi mm. de diamètre. Voilà pourquoi dans ces jeunes nodosités nous avons pu observer seulement la forme initiale de la Bactérie qui s'y trouve en bâtonnets fins et courts.

Acacia lineata A. Cunn.

Les tubercules ont été récoltés en petit nombre sur un pied cultivé dans les serres du Muséum d'Histoire Naturelle. En examinant les coupes de ces tubercules nous avons constaté l'existence de médulles secondaires, des cellules spéciales et des cellules intermédiaires ; ces dernières remplies de gros grains d'amidon. A l'intérieur des cellules hospitalières le microorganisme est disposé parfois par petits groupes, par petits amas, et on peut supposer que ces Bactéries secrètent une substance quelconque plus ou moins gélatineuse qui ne leur permet pas de se disperser. La longueur maximum du bâtonnet bactérien est de 2 μ (Pl. XXIV, Flg. 19).

Acacia Melanoxylon R. Br. (1).

Elle possédait de nombreuses tubercules sur ses racines. Nous avons fixé quelques nodosités au Regaud ; certaines d'entre elles avaient un diamètre de 5 à 6 mm:

Dans les coupes nous avons remarqué une très grande hypertrophie des cellules spéciales, des noyaux et leurs nucléoles. Nous avons mesuré des cellules parasitées de 250 μ sur 50 μ. Dans ces cellules le noyau atteignait de 25 μ à 35 μ de diamètre et le nucléole de 6 μ à 12 μ. Les cellules intermédiaires contiennent plusieurs grains d'amidon simples et des cytosomes pariétaux. (Pl. XLI).

Les Bactéries sont en forme de courts bâtonnets gonflés, mesurant à peine 1,5 μ. Nous avons observé de très belles ramifications du filament muqueux qui traversaient les cellules et propageaient l'infestation (Pl. XXIV, Fig. 20 et 21 ; et Pl. XLII). Ces filaments extrêmements fins, ne contenaient qu'une seule rangée de Bactéries à l'intérieur, et de place en place seulement aux points de ramification, nous remarquions des gonflements, avec un groupe de Bactéries. Il y avait aussi de pareils gonflements lorsque le filament se rapprochait du noyau.

Ici le microorganisme ne subit aucune altération, même dans les gros tubercules, et il reste toujours très chromatique et en forme de bâtonnet. La résistance des cellules hospitalières et de leurs noyaux est également très grande. Ces derniers sont très hypertrophiés et persistent dans presque toutes les cellules. Le nucléole est énorme et très chromatique. Comme nous l'avons dit plus haut, nous n'avons remarqué aucune digestion de Bactéries. Cette observation est certes valable pour tous les tubercules que nous avons étudiés dans cette espèce, mais peut on en déduire qu'elle s'étendrait à tous les tubercules

1. Plante provenant d'une pépinière de Fréjus.

d'*Acacia Melanoxylon* sans exception, cultivés ailleurs, ou tout simplement récoltés dans une autre saison ?

* * *

Acacia dealbata Lk. (1)

Les tubercules récoltés sur les radicelles de cette espèce sont assez volumineux. Les Bactéries sont en grande partie digérées, et dans les cellules spéciales nous ne trouvons qu'une substance amorphe représentant le résidu de cette digestion. Les cellules intermédiaires sont très peu nombreuses. Les cellules spéciales ne sont pas aussi fortement hypertrophiées que chez l'*Acacia Melanoxylon.* Dans les espaces intercellulaires il y a beaucoup de Bactéries très chromatiques qui n'ont subi aucune digestion (Pl. XXIV, Fig. 22). Le noyau ne résiste pas, il est très vite détruit et sans laisser souvent aucune trace dans la cellule. Les Bactéries sont de fins bâtonnets de 2 μ au maximum. Nous trouvons donc ici un contraste complet avec les Bactéries des tubercules des autres *Acacia* où le microorganisme ne subissait aucune digestion.

Acacia floribunda Hort (2).

Tubercules fixés au Bouin et au Regaud. Les coupes montrent à peu de choses près les caractères des autres espèces d'*Acacia*, et nous trouvons encore des médulles secondaires. Dans cetrains tubercules les cellules spéciales ne sont pas très hypertrophiées et dans d'autres l'hypertrophie est comparable à celle des cellules spéciales des nodosités d'*Acacia Melanoxylon.* Le microorganisme est étalé sur toute la surface des cellules hospitalières. Il

1. Pépinière de Fréjus.
2. Pépinière de Fréjus.

représente de fins bâtonnets d'une longueur maximum de 3 μ. Quelquefois les éléments bactériens sont groupés à l'intérieur des cellules par petits amas. Nous avons rencontré des tubercules dont les Bactéries sont presque totalement digérées comme chez l'*Acacia dealbata.* Cette désorganisation du microorganisme est accompagnée par une altération des membranes cellulaires. Le noyau s'hypertrophie et persiste assez longtemps dans les cellules spéciales même lorsque le microorganisme commence à être digéré. Son nucléole montre également des bourgeonnements. Les cellules intermédiaires possèdent quelques grains d'amidon simples. Dans un très jeune tubercule, les cellules de l'écorce renfermaient une très grande quantité de précipitations (Pl. XLII). Dans les espaces intercellulaires il y a des Bactéries très chromatiques qui n'ont subi aucune digestion.

EUMIMOSEAE

Leucaena glauca Benth (1).

Ayant fait déterrer presque complètement un arbrisseau de cette espèce pour rechercher ses tubercules, nous en avons trouvé une grande quantité. Les radicelles étaient surchargées d'innombrables nodosités qui sont très caractéristiques au point de vue morphologique. Ce sont des sphères de 1 à 6 mm. et très dures au toucher, comme de petits grains de plomb (Fig. 3 A). Ce matériel abondant a été fixé au Regaud et au fixateur de Nawaschin.

L'écorce du tubercule est constituée par plus de quinze rangées de cellules parenchymateuses. Les cellules de l'endoderme ont des membranes épaisses et contiennent beaucoup de précipitations. Le manteau est représenté

1. Villa Thuret.

également par plusieurs couches de cellules. Au centre du tubercule nous trouvons des médulles secondaires qui ne possèdent presque pas des cellules intermédiaires, tandis que les cellules spéciales l'une à côté de l'autre couvertes par le parasite forment une espèce de nappe de Bactéries (Fig. 3, B). Souvent les membranes des cellules hospitalières sont détruites dès le début et alors toute la médulle du tubercule n'est plus qu'un nuage pulvérulent parsemé de points noirs (Fig. 3, C.). Dans d'autres tubercules, les membranes cellulaires disparues, la masse bactérienne forme une sorte de bande tapissée par le microorganisme (Fig. 3, D).

Nous avons examiné une grande quantité de ces tubercules et constaté que certains montraient quelques caractères particuliers. Par exemple : un premier tubercule possédait des cellules spéciales avec des vacuoles centrales (Fig. 3, E) et cette nappe de bactéries dont nous parlons plus haut ne se formait pas aussi uniformément sur toute sa surface. La médulle d'une deuxième nodosité était constituée par des cellules spéciales qui hébergeaient très peu de Bactéries (Fig. 3, F) comme s'il s'agissait de cellules venant seulement d'être infectées. Un troisième tubercule contenait des cellules spéciales où la Bactérie avait subi une certaine évolution. En effet le microorganisme se montrait beaucoup plus gonflé que sous sa forme initiale ; en outre il affectait des formes différentes, légèrement ramifiée un peu boursouflée, étirée, etc. que nous pouvons prendre pour des Bactéroïdes. (Fig. 3, G). En tous cas nous n'avons pas observé de digestion même partielle de la Bactérie dans les tubercules de *Leucanea glauca.*

La forme initiale de la Bactérie est celle d'un bâtonnet très fin et très court, qui s'allonge après son séjour dans les cellules hospitalières et mesure jusqu'à 2,5 μ. Dans le cas où les Bactéries affectent des formes ramifiées ou boursouflées, leur taille dépasse 2,5 μ. Ce qui est le plus important à retenir pour les tubercules de cette plante c'est que

ni les cellules spéciales, ni le noyau ne subissent une hypertrophie notable (Fig. 3, H). Les cellules spéciales qu'elles appartiennent à la base du tubercule ou à la zone moyenne,

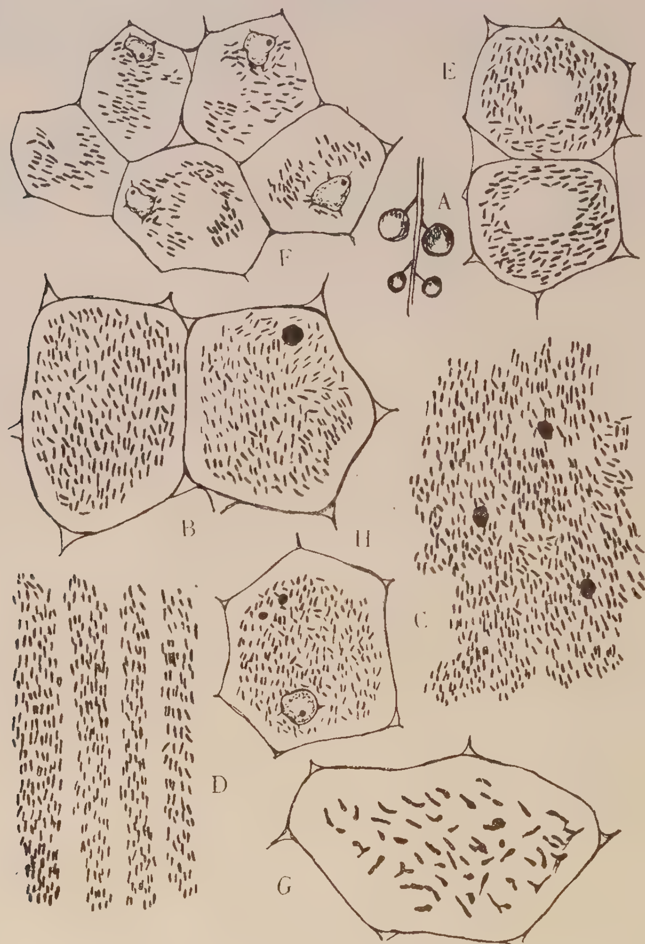


Fig. 3. — *Leucaena glauca* Benth.

gardent leur forme polyédrique. En ce qui concerne le noyau on n'y relève aucun changement si ce n'est une légère déformation. Le nucléole est un petit corpuscule excentrique. Ici la symbiose a obtenu un équilibre presque

parfait. Mais ainsi que nous l'avons déjà dit, il y a des tubercules où les membranes cellulaires sont détruites, et il ne reste du noyau qu'un petit amas chromatique. Dans ce cas-là il nous semble que le tubercule a dû se trouver dans des conditions peu favorables et que le microorganisme a pris le dessus. Ces mauvaises conditions sont en général une sécheresse ou une humidité extrêmes.

Schranckia uncinata Willd (1).

Nous avons trouvé quelques rares tubercules allongés, légèrement lobés et assez volumineux. La médulle a un aspect particulier avec ses grandes cellules spéciales à

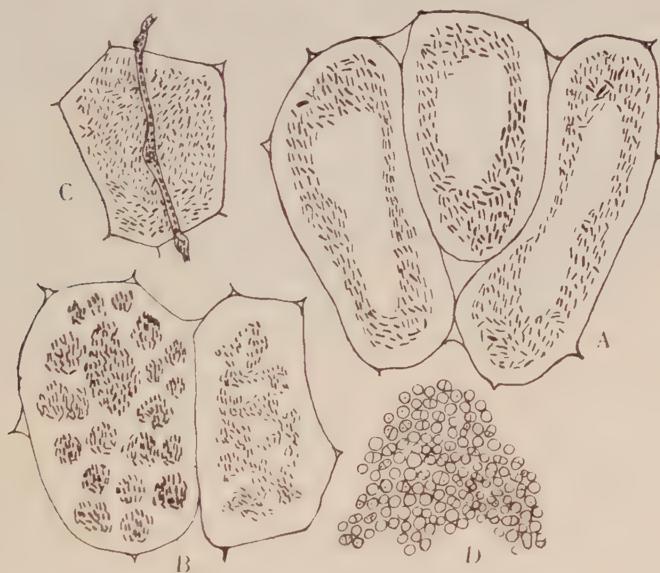


Fig. 4. — *Schranckia uncinata* Willd.

énorme vacuole centrale. Il y a à côté des cellules infestées une assez grande quantité de cellules intermédiaires possédant trois ou quatre grains d'amidon simples. Le

1. Villa Thuret.

noyau est déformé et légèrement hypertrophié. Il disparaît assez vite, et dans les cellules hospitalières de la base du tubercule nous ne le trouvons plus. La Bactérie est un fin bâtonnet, qui à l'apogée de son développement ne dépasse pas 2 μ. Ces microorganismes forment en général une couronne entre la membrane cellulaire et la vacuole (Fig. 4, A) dans d'autres cas ils sont groupés par petits amas sphériques (Fig. 4, B).

Parmi les tubercules que nous avons examinés il y en avait de gros et de petits c'est-à-dire à différents stades de leur développement, mais on ne trouve pas trace de digestion des Bactéries dans aucun d'entre eux. Dans une cellule à Bactéries nous avons remarqué la présence d'un fin filament muqueux non encore résorbé (Fig. 4,C). Ce filament est très mince et montre de place en place de petits renflements. Les cellules intermédiaires renferment des grains d'amidon et quelques cytosomes pariétaux. Enfin vers le sommet d'un tubercule nous avons observé la présence d'un organisme microscopique différent des Bactéries habituelles et nous sommes embarrassée pour l'identifier. Cet organisme ressemble à un gros microcoque qui se divise et à l'intérieur duquel on aperçoit un petit point chromatique. (Fig. 4, D,).

Mimosa dysocarpa (1) Benth.

Tubercules assez volumineux et lobés. Fixation au Regaud. Dans les coupes nous remarquons des médulles secondaires. Les cellules spéciales sont mélangées aux cellules intermédiaires. Les trois zones sont plutôt marquées par la grosseur des cellules hospitalières que par la digestion des Bactéries. Vers le sommet du tubercule les jeunes cellules sont traversées par un entrelacis de fins filaments muqueux qui se gonflent de place en place surtout à l'approche d'un

1. Villa Thuret, octobre 1930.

noyau (Fig. 5, A). La zone moyenne contient des cellules spéciales d'un aspect vaporeux à cause de la présence de nombreuses petites vacuoles et des cellules à grande vacuole centrale (Fig. 5, B). Tout à fait à la base du tubercule les cellules hospitalières sont très hypertrophiées

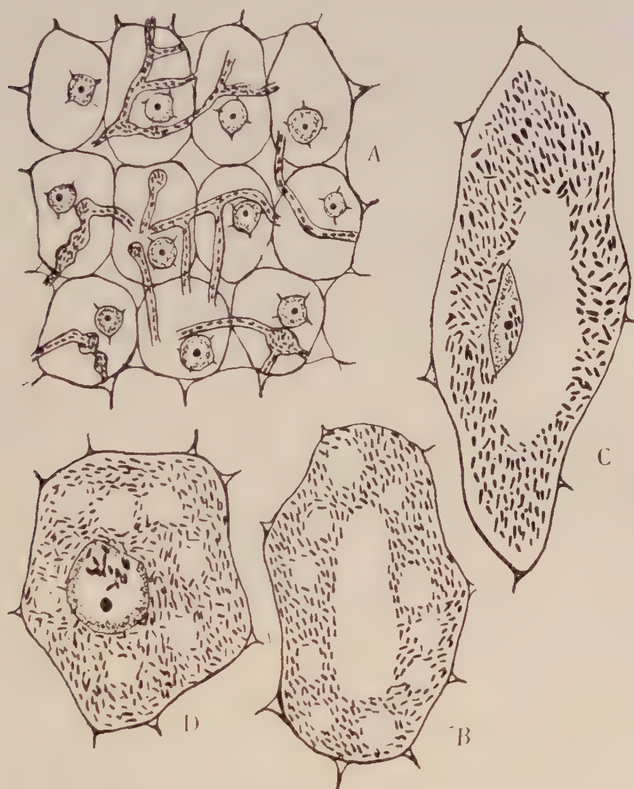


Fig. 5. — *Mimosa dysocarpa* Benth.

et s'allongent généralement beaucoup (Fig. 5, C). Le noyau s'hypertrophie, se déforme, disparaît petit à petit et nous avons vu même des Bactéries à l'intérieur de ce dernier (Fig. 5, D). Les cellules intermédiaires contiennent peu d'amidon. La Bactérie est un court bâtonnet qui s'allonge un peu et atteint 2,5 μ. Elle est très chromatique et n'est pas digérée par l'hôte.

ADENANTHEREAE

Prosopis dulcis Kunth (1).

Les tubercules étaient assez rares, mais d'une grosseur de quelques mm. et lobés. Fixation au Regaud et au Bouin. Les coupes montrent des médulles secondaires. Les cellules spéciales subissent une très grande hypertrophie et sont mélangées aux cellules intermédiaires qui sont très pauvres en amidon. Dans un autre tubercule on ne trouve pas des cellules intermédiaires. Les membranes des cellules hospitalières sont détruites très tôt. La forme initiale de la Bactérie est un petit bâtonnet court et un peu renflé à l'une de ses extrémités. Il grossit, devient très polymorphe et se vacuolise. Sa longueur maximum est de 2,5 μ à 3 μ. Nous rencontrons des éléments piriformes, de gros bâtonnets et de petites sphérules (Pl. XXV, fig.1). L'évolution de toutes les Bactéries ne s'effectuant pas synchroniquement on trouve à côté des sphérules, des bâtonnets courts et très chromatiques. Nous n'avons pas observé de digestion du microorganisme.

Ces nodosités sont également infestées par des hyphes mycéliens très fins.

Prosopis Nandubey Lorentz (2).

Sur ses racines nous n'avons pas trouvé de véritables tubercules, mais plutôt de simples renflements que nous avons fixés au liquide de Nawaschin (Pl. XXV, Fig. 2). Les coupes nous ont montré que ces renflements n'étaient nullement des tubercules, mais des racines à prolification anormale. Dans quelques cellules corticales de ces renfle-

1. Serres du Muséum d'Histoire Naturelle. Paris, janvier 1930.
2. Villa Thuret.

ments nous avons trouvé des Bactéries en forme de bâtonnets, extrêmement petits ainsi que des filaments mycéliens.

Adenanthera pavonina L. (1).

Bien que n'ayant pas trouvé de nodosités nous avons voulu savoir si les racines de cette plante n'étaient pas, malgré les apparences, infestées par un parasite quelconque. Dans l'écorce de la racine il y a quelques filaments mycéliens et à la périphérie de cette écorce, des groupes de Bactéries qui ne pénétrent pas à l'intérieur de la racine.

PIPTADENIAE

Piptadenia rigida Benth. (2)

Sur les radicelles d'un pied de *Piptadenia rigida* nous avons trouvé seulement deux petits tubercules d'à peine 0,3 à 0,4 mm. de diamètre (Fig. 6 A.). Ce matériel délicat a été fixé au Bouin. Les coupes montrent des médulles secondaires. Il n'y a presque pas de cellules intermédiaires. Les cellules spéciales remplies de Bactéries sont sans trace d'aucune vacuole. Elles sont également hypertrophiées et leur noyau a complètement disparu (Fig. 6 B). La Bactérie est un fin bâtonnet allongé qui mesure, au maximum, 2 μ. L'aspect de la médulle est en un mot assez caractéristique. Le microorganisme n'est pas digéré. Il n'y a presque pas de grains d'amidon. En outre, notons la présence d'un mycélium très abondant dans l'un des tubercules. Les hyphes du champignon se rencontrent en quantité considérable dans le manteau, le voile et l'écorce du tubercule, tandis que dans la médulle leur nombre diminue. Ils s'installent dans les cellules ou dans les espaces

1. Serres du Muséum d'Hist. Naturelle. Paris.
2. Villa Thuret.

intercellulaires. Il y en a de gros et de plus fins. En général ceux qui pénètrent dans la médulle sont les plus fins. Nous avons remarqué que ces hyphes sont cloisonnés et que les noyaux qu'ils renferment sont bien nets et chromatiques. Ce deuxième hôte forme des conidies et nous avons

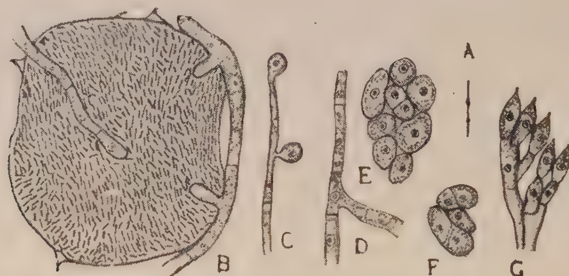


Fig. 6. — *Piptadenia rigida* Benth. et le champignon parasite.

même constaté la présence de jeunes périthèces. Ces organes nous montrent sans contredit que le champignon en question n'est autre chose qu'un *Ascomycète* (Fig. 6, C. D, E, F, G). Les filaments intercellulaires envoient des suçoirs simples à l'intérieur des cellules parasitées. Malgré la présence du deuxième parasite le tubercule s'est développé très normalement.

CAESALPINIOIDEAE

AMHERSTIEAE

Hymenaea Courbaril L (1).

Nous avons toujours supposé que les *Caesalpinioideae* possèdent des tubercules comme les autres classes des *Légumineuses* : les *Papilionatae* et les *Mimosoideae*s. Dans

1. Serres du Muséum d'Hist. Nat. Paris.

les traités de botanique il n'est pas expressément indiqué que les *Caesalpinioideae* avaient des nodosités. En faisant notre bibliographie, nous avons rencontré peu d'auteurs qui indiquent la présence des tubercules chez les *Caesalpinioideae*. Brunchorst, par exemple, dit que les tubercules existent chez toutes les *Papilionatae* et chez la plupart des *Caesalpinioideae* et des *Mimoseae*.

Nous avons cherché des nodosités sur les racines de ces plantes cultivées dans les serres du Muséum d'Histoire Naturelle, aux établissements Vilmorin et au jardin de villa Thuret. Nous avons examiné ainsi les racines de : *Bauhinia*, *Cassia*, *Caesalpinia*, *Haematoxylon*, *Gleditschia*, etc. C'est seulement sur deux pieds de *Bauhinia* élevés aux serres de la villa Thuret que nous avons trouvé quelques tubercules. Les autres *Caesalpiniae*, même croissant dans le Midi de la France ne nous ont pas fourni de tubercules. Nous avons voulu cependant examiner des racines de ces plantes, pour voir si elles n'étaient pas infestées par d'autres parasites. C'est ainsi que nous avons fixé des racines d'*Hymenaea Courbaril*. Examinant les coupes de ces racines nous n'avons trouvé aucune trace ni de Bactéries, ni de filaments mycéliens.

BAUHINIEAE

Bauhinia species.

Après avoir vainement et à plusieurs reprises cherché des nodosités sur les racines de différentes *Bauhinia* cultivées, nous en avons enfin trouvé sur un pied, assez jeune, quelques-unes de diverses grosseurs dont l'une d'entre elles était assez volumineuse et mesurait plus de 7 mm. de diamètre. Ces nodosités avaient une forme boursouflée. Le matériel a été fixé au Regaud, au Bouin et au Flemming. Les meilleures préparations étaient celles des tuber-

cules fixés au RÉGAUD. Les coupes nous montrent la structure d'un véritable tubercule. Rien de spécial à signaler dans le manteau, le voile, l'écorce, si ce n'est que toutes ces enveloppes sont constituées par un petit nombre de couches cellulaires. Les cordons libéro-ligneux, situés dans l'écorce du tubercule, sont des faisceaux collatéraux d'une structure normale, c'est-à-dire à bois externe et à liber interne. Au centre de chaque tubercule, on trouve plusieurs médulles secondaires. Les cellules spéciales, qui sont supérieures en nombre, sont mélangées aux cellules intermédiaires qui contiennent quelques grains d'amidon et des cytosomes. Elles sont souvent très hypertrophiées et possèdent parfois une petite vacuole centrale (Pl. XXV, Fig. 3 et 4). Le fait le plus important à noter dans ces cellules hospitalières est la déformation du noyau et l'évolution des Bactéries. Le noyau est très déformé et prend l'aspect d'une dentelle déchirée, son nucléole est relativement petit ; puis, bientôt il est réduit à quelques petits lambeaux qui se distinguent dans la masse bactérienne par leur structure et leur coloration (Pl. XXV, Fig. 5 et 6).

Les Bactéries sont d'abord des bâtonnets courts et assez épais mesurant de 1,5 μ à 2,5 μ. Ensuite ces organismes s'allongent, commencent à se vacuoliser, prennent un aspect dichotomique ou évoluent simplement en sphérules. Ces dernières sont plus rares, tandis que les formes ramifiées sont en nombre considérable. Ces variations dans la forme des Bactéries sont extrêmement intéressantes à considérer au cours de leur développement. Incontestablement nous avons dans ces tubercules de véritables formes ramifiées que les auteurs appellent des *Bactéroïdes*. Les Bactéries qui deviendront des sphérules se gonflent à une de leurs extrémités et peu à peu la partie qui n'a pas été déformée et qui se présente comme une petite queue finit par se résorber. Plus tard les Bactéroïdes ainsi que les sphérules renferment de minuscules vacuoles dans lesquelles nous apercevons des corpuscules chromatiques,

infiniment petits, qui ne sont que des précipitations métachromatiques. Nous avons mesuré le diamètre des sphérules et nous avons constaté qu'il ne dépassait pas 3 μ tandis que les *Bactéroïdes* pouvaient atteindre une longueur jusqu'à 9 μ. Cette transformation du court bâtonnet simple en un corps ramifié, boursouflé ou arrondi est, à première vue, incroyable. Mais ayant observé tous les stades successifs de ce développement nous avons pu nous convaincre de sa réalité. Si nous n'avons pu assister à une digestion complète de ces microorganismes, c'est que les tubercules examinés étaient relativement jeunes. Car ordinairement le phénomène de la digestion survient toujours après une évolution analogue des Bactéries.

CASSIEAE

Cassia acutifolia (1) Del.

En l'absence de nodosités nous avons fixé des fragments de racine. Les coupes longitudinales montrent qu'il y a dans l'écorce de la racine plusieurs cellules qui étaient habitées par les hyphes d'un champignon (Pl. XXV, Fig. 7). Le mycélium est d'un diamètre beaucoup plus grand dans les espaces intercellulaires et dans certaines cellules (par exemple de 4 à 5 μ), mais en général, à l'intérieur des cellules hospitalières il se ramifie et forme un réseau de fins trabécules qui ne dépassent guère 1,5 μ de diamètre. Ces hyphes sont cloisonnées et possèdent de 1 à 4 noyaux par article. Les cellules infestées sont hypertrophiées comme leur noyau qui est ensuite vite détruit par l'action du parasite. Nous n'avons pas remarqué des grains d'amidon à l'intérieur des tissus envahis par le champignon.

1. Serres du Muséum d'Hist. nat.

Nous avons voulu reprendre l'étude de cette mycorhize. Un an plus tard nous avons coupé des racines fraîches. Nous n'avons pas retrouvé le parasite, mais nous avons remarqué la présence d'une grande quantité de gros grains d'amidon composés à l'intérieur de la racine, et même dans son cylindre central.

PAPILIONATAE

SOPHOREAE

Sophora Moorcroftiana Benth (1).

Avec cette plante nous abordons le troisième groupe de la grande famille des *Légumineuses* : les *Papilionacées.* Et nous verrons par l'exposé qui va suivre que les tubercules des *Papilionacées* montrent des caractères identiques dans leurs grandes lignes à ceux des nodosités des *Césalpiniées* et des *Mimosées.* Nous avons trouvé une quantité de gros tubercules sur les racines de *Sophora Moorcroftiana.* Au centre de ces nodosités il y a plusieurs médulles secondaires. L'hypertrophie des cellules spéciales et de leurs noyaux n'est pas excessive (Pl. XXV, Fig. 8). Les cellules intermédiaires sont peu nombreuses. Ce qui est important de noter c'est que les cellules parasitées, même à partir de la zone moyenne, ont des membranes déchirées. Le noyau persiste assez longtemps et avant d'être complètement détruit, son nucléole montre des bourgeonnements.

Les cellules de l'écorce sont remplies de petits grains d'amidon.

La Bactérie est un fin bâtonnet qui, avec le temps, s'allonge sans grossir et mesure jusqu'à 3 μ de longueur. Le

1. Pépinière de Vilmorin à Verrière.

microorganisme n'est pas digéré mais néanmoins nous remarquons qu'il n'est pas aussi chromatique vers la base du tubercule. Nous avons observé vers le sommet du tubercule dans le méristème quelques stades de divisions nucléaires (Pl. XXV, Fig. 9, 10, 11, 12, 13 et 14). Nous avons compté à peu près 16 chromosomes. Le Bouin nous a toujours permis de voir de bonnes divisions nucléaires.

PODALYRIEAE

Brachysema lanceolatum Meisn (1).

Sur les racines d'un pied de *Branchysema lanceolatum* nous avons trouvé quelques tubercules de 1 à 2 mm. de diamètre. Ces nodosités ont été fixées au Regaud. Les coupes montrent une médulle composée de cellules intermédiaires et de cellules spéciales très hypertrophiées. Le noyau des cellules parasitées s'hypertrophie et finalement il est complètement désorganisé. La Bactérie est, au commencement, un court et fin bâtonnet qui s'allonge un peu, pendant son séjour dans les tissus hospitaliers, en résistant fortement aux réactions des cellules envahies. Dans le cytoplasme pariétal des cellules spéciales et des cellules intermédiaires nous avons remarqué quelques cytosomes. L'amidon est plutôt concentré dans les cellules de l'écorce. Le manteau des tubercules n'aurait pas retenu, plus spécialement, notre attention si ce n'était la présence de filaments mycéliens qui envahissent une grande partie de ses cellules et dont nous donnons la description au chapitre suivant.

1. Serres du Museum d'Histoire Naturelle. Paris.

GENISTEAE

SPARTIINAE

Lupinus albus L. (1).

Les tubercules étaient arrondis ou irréguliers et aplatis. Les assises du manteau sont formées par des cellules allongées à parois épaissies, renfermant peu de cytoplasmes, un noyau et quelques plastes. Le voile, c'est-à-dire l'endoderme est adossé au manteau et est constitué par des cellules encore plus grandes que celles du manteau et à parois plus épaisses. Les toutes premières assises des cellules de la médulle forment l'écorce du tubercule, dans laquelle sont disposées les stèles binaires provenant de la racine mère à structure également binaire.

Les autres cellules parenchymateuses sont occupées par le microorganisme. Les cellules de l'écorce de *Lupinus albus* renferment peu d'amidon à grains plutôt petits et simples.

La médulle est souvent découpée en plusieurs îlots formant ainsi des médulles secondaires, entourées des cellules parenchymateuses.

Un autre caractère à noter, réside dans l'absence, presque totale, des cellules intermédiaires ; et il est important de remarquer aussi que les cellules parasitées ne sont pas hypertrophiées, ni déformées comme on le constate généralement dans la plupart des tubercules des *Légumineuses* (Fig. 7). Dans ces cellules spéciales, les vacuoles sont petites ou font complètement défaut. Quelquefois cependant dans les cellules parasitées de la zone basilaire il y a une vacuole centrale, assez volumineuse. Les Bactéries sont de petits bâtonnets allongés, très chromatiques. Ce qui est évident, c'est que le microorganisme conserve sa

1. Jardin des plantes du Muséum d'Hist. Nat. Paris, juin 1926.

vitalité jusqu'à la destruction du tubercule. Nous n'avons pas pu voir d'état bactéroïde, rarement aperçu par M. P.-A. Dangeard. Nous avons constaté seulement que les Bactéries, après leur séjour dans les tubercules, devenaient plus allongées mesurant 2,5 μ à 3 μ) que la forme initiale (mesurant 1,5 μ). Ici, les trois zones qu'on trouve en général dans

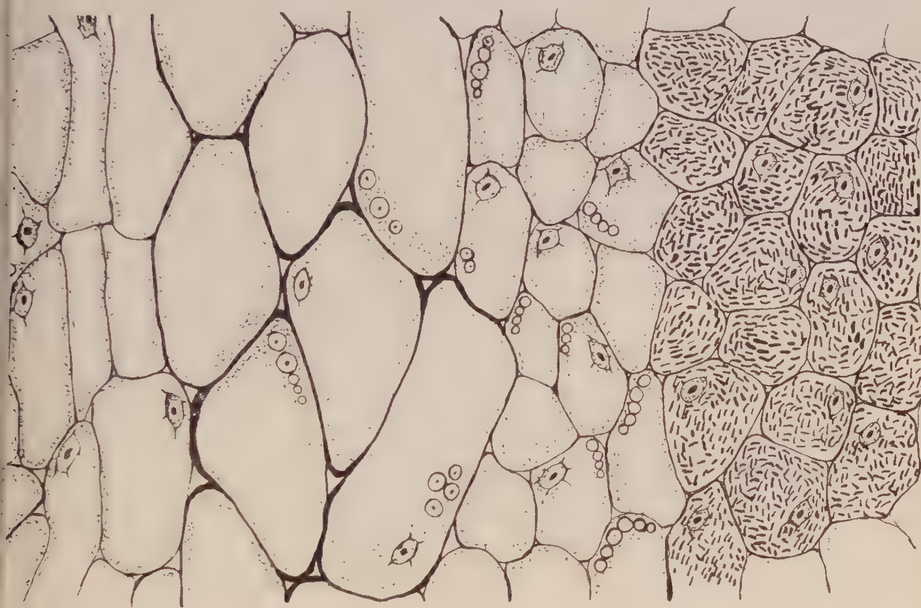


Fig. 7. — *Lupinus albus L.* Coupe transversale d'un tubercule.

un tubercule, ne sont presque pas distinctes, puisque les Bactéries n'évoluent pas en bactéroïdes et sphérules. Ce qui peut servir à délimiter les zones, c'est l'amidon de l'écorce, qui commence par être digéré dans la zone de la base, tandis qu'il reste intact dans la zone moyenne et manque dans la zone de croissance. Mais dans les tubercules âgés ce moyen même fait défaut, puisque l'amidon continue à être digéré, tandis que les Bactéries gardent leur forme primitive et leur vitalité.

Le noyau ne s'hypertrophie presque pas et son nucléole

est bien visible ; cependant dans certaines cellules parasitées le noyau se désorganise en même temps que la membrane cellulaire. Il nous semble que dans les tubercules de cette *Légumineuse* les cellules et les Bactéries ont la même résistance. La symbiose est donc équilibrée.

La vitalité du parasite a été très bien remarquée par M. P.-A. Dangeard et il considère que : *en écrasant dans l'eau quelques centaines des tubercules de Lupin on obtiendrait une quantité de liquide très chargé en Bactéries qui suffirait à contaminer un nombre considérable de graines, tout aussi bien sinon mieux, qu'avec des doses notables de Nitragine ou de Nitrobactérine.* Il faut savoir cependant si la Bactérie du Lupin est susceptible de contaminer d'autres Légumineuses et précisément lesquelles ? En tous cas le Lupin est une *Légumineuse* qui peut considérablement enrichir le sol en Bactéries. Nous avons observé quelques petits groupes de Bactéries dans les cellules de l'endoderme et du péricycle d'un faisceau libéro-ligneux. Ici la Bactérie ne se développe pas de manière à remplir la cellule hospitalière et on pourrait très bien observer sa forme en détail. Ces microorganismes possèdent deux petits points très chromatiques à leurs extrémités, et nous avons pu voir également des stades de leur division.

Spartium junceum L. (1).

La forme des nodosités est assez variable. Certaines sont arrondies, d'autres allongées, d'autres enfin triangulaires et aplaties. Le matériel a été fixé au Bouhin. En même temps nous avons recueilli des tubercules d'un autre pied, provenant du jardin des Plantes du Muséum. Ceux-là ont été fixés au Regaud. En étudiant ces tubercules nous avons vu qu'ils offraient une grande ressemblance avec les nodosités du Lupin, sauf l'évolution des

1. Pépinières de Vilmorin à Verrière, août 1926.

Bactéries qui diffère. Par exemple : ici comme chez le Lupin, nous trouvons des médulles secondaires ; les cellules intermédiaires font complètement défaut, les cellules spéciales s'hypertrophient légèrement, ainsi que leurs noyaux, etc. (Pl. XXV, Fig. 15). Les cellules de l'écorce du tubercule contiennent de nombreux grains d'amidon et entourent les stèles binaires. Certaines cellules spéciales possèdent une vacuole centrale, ce qui fait que la masse bactérienne se dispose en forme de couronne, adossée à la membrane cellulaire.

Dans les cellules du sommet du tubercule le noyau a un grand nucléole, tandis que celui des cellules parasitées a un petit nucléole avec plusieurs granules chromatiques autour (Pl. XXV, Fig. 18 et 19). Quelquefois ce nucléole montre des bourgeonnements. Bien que les noyaux résistent au commencement à l'action des Bactéries ils finissent quand même par être désorganisés. Le même sort attend également les membranes cellulaires de la zone basilaire où elles sont en grande partie détruite. Nous avons examiné quelques petits tubercules dont les membranes des cellules spéciales étaient complètement déchirées.

Nous avons dit plus haut que le développement de la Bactérie était différent de ce que l'on trouve chez le Lupin. C'est ainsi que le microorganisme des tubercules du *Spartium* d'abord simple bâtonnet court devient un bactéroïde recourbé et même une sphérule. Les formes bactéroïdes et arrondies sont tellement bizarres qu'on croirait difficilement qu'elles proviennent de la forme initiale en bâtonnets. Mais une coupe longitudinale dans un tubercule plus âgé nous montre successivement tous les stades du développement de la Bactérie et ceci est très démonstratif. Au commencement le bâtonnet ne mesure pas plus de 1 μ de longueur, ensuite il s'allonge, se recourbe, et enfin se renfle à l'une de ses extrémités et s'arrondit. Dans les formes arrondies nous remarquons souvent une partie plus chromatique, tandis que le reste est incolore. Dans les

cellules où le microorganisme a été, en grande partie, digéré, nous trouvons des groupes de Bactéries, très chromatiques, qui cheminent à travers les membranes et dans les espaces intercellulaires. (Pl. XXV, Fig. 16 et 17). Les formes recourbées peuvent atteindre 7 μ de longueur. Le filament muqueux est fin, mais avec des renflements de place en place ou à son extrémité (Pl. XXV, Fig. 17). Quelques cellules de la périphérie du manteau contiennent des filaments mycéliens cloisonnés et uninucléés d'un diamètre qui correspond à celui des hyphes de l'*Ascomycète* que nous avons trouvé dans d'autres tubercules des *Légumineuses*. Ici nous n'avons pas trouvé de périthèce, mais seulement des chlamydospores en formation.

Genista florida (1) Asso.

Sur les radicelles de *Genista florida* nous avons trouvé une quantité de petits tubercules allongés ou arrondis que nous avons fixés au Bouin. Dans l'écorce de ces nodosités nous trouvons des stèles binaires comme chez *Lupinus* et le *Spartium*. Ici également la médulle ne contient pas des cellules intermédiaires. Les cellules spéciales sont faiblement hypertrophiées et dans la zone moyenne elles possèdent une vacuole centrale. Le noyau ne s'hypertropie pas beaucoup mais il cède rapidement à l'action du microorganisme et se désorganise en laissant parfois un amas chromatique dans la cellule envahie. Son nucléole montre des bourgeonnements.

Dans ces tubercules, les trois zones sont suffisamment marquées par les différents stades de la digestion de la Bactérie et de l'amidon. Ce dernier est extrêmement abondant dans les cellules de l'écorce (Pl. XXV, Fig. 23) et les cellules spéciales ne manquent pas d'en posséder quelques grains (Pl. XXV, Fig. 20). La Bactérie est, au commen-

1. Pépinières de Vilmorin à Verrière.

cement, un bâtonnet très court mesurant 0,5 μ à 0,6 μ qui s'allonge ensuite un peu et se gonfle en prenant un aspect d'un organisme très polymorphe. C'est ainsi que dans la zone moyenne du tubercule les Bactéries ont des formes très irrégulières, arrondies, recourbées, en virgule, etc. qu'on peut prendre pour de petits Bactéroïdes (Pl. XXV, Fig. 21). A ce stade la Bactérie mesure 1,2 μ à 1,5 μ. A la base du tubercule les Bactéries sont en grande partie digérées, ne laissant qu'un résidu amorphe et quelques bâtonnets chromatiques, ce qui indique la présence du microorganisme détruit (Pl. XXV, Fig. 22).

Genista hispanica L. (1).

Sur les racines d'un pied arraché, nous avons trouvé quelques tubercules de petite taille, c'est-à-dire de 1 à 2 mm. de diamètre. Fixation au Regaud. La médulle de ces tubercules est constituée uniquement par des cellules spéciales ; les cellules intermédiaires font complètement défaut. L'hypertrophie des cellules envahies est très faible et celle du noyau est presque inexistante. Dans les cellules parasitées de la base du tubercule nous ne trouvons plus de traces du noyau, qui est détruit par l'action de la Bactérie.

En observant le microorganisme des tubercules de *Genista hispanica*, nous avons constaté qu'il est assez différent dans son évolution d'une nodosité à l'autre, et qu'il s'installe dans les cellules hospitalières de plusieurs manières. Dans un tubercule *a* par exemple, la forme initiale du parasite est un court et fin bâtonnet d'à peine 0,4 μ à 0,5 μ. Ensuite ce microorganisme s'allonge et mesure jusqu'à 3 μ. En outre, nous voyons les Bactéries dispersées dans les cellules spéciales ou entourant une vacuole centrale et quelques grains d'amidon, ou enfin réunies en masses compactes plus ou moins grandes et arrondies

1. Jardin des plantes du Muséum d'Histoire Naturelle. Paris.

(Fig. 8). Une partie des cellules hospitalières ont leurs membranes détruites et la Bactérie chemine en large bandeau dans les espaces intercellulaires.

Le tubercule *b* est contaminé par une Bactérie initialement en bâtonnets un peu gros et extrêmement courts



Fig. 8. — *Genista hispanica* L.

ne mesurant pas plus de 0,4 μ. Le plus souvent nous trouvons ces formes courtes réunies en groupes de deux à trois. Après un séjour dans les tissus hospitaliers, la Bactérie grossit un peu, s'allonge et se vacuolise (Fig. 9, A). A ce stade elle peut atteindre à peine 1,5 μ à 2 μ de longueur. Avec la vacuolisation la chromophilie diminue beaucoup, mais nous n'avons pas assisté à une véritable

digestion de cet organisme par les cellules. On peut se demander si les corpuscules réfringents de la Bactérie en question sont précisément des vacuoles ou des spores ? Nous inclinons à les assimiler à des vacuoles, car si nous étions en présence d'une sporulation, nous aurions trouvé des spores libres dans les cellules envahies à côté des Bactéries faiblement chromatiques.

Dans ce même tubercule, les cellules de la première

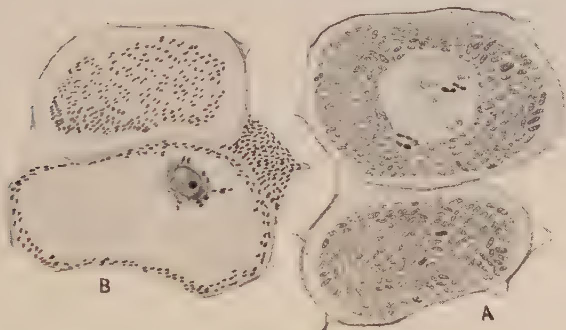


Fig. 9. — *Genista hispanica* L.

zone où se fait la contamination des tissus par les Bactéries et celles de la zone moyenne ne sont pas riches en protoplasme et le microorganisme n'occupe, le plus souvent, qu'une mince couche pariétale confinant à la membrane cellulaire (Fig. 9, B).

Les autres tubercules de *Genista hispanica* que nous avons examinés présentent des caractères du tubercule type *a*. L'écorce de ces nodosités est riche en amidon. Nous en trouvons également quelques grains dans les cellules spéciales. Les faisceaux conducteurs sont des stèles binaires.

Genista pilosa L.

C'est une petite plante ligneuse dont nous avons récolté plusieurs exemplaires à Besse-en-Chandesse (Auvergne).

Les nodosités n'étaient pas très abondantes sur ses racines et d'autre part quelques-unes se trouvaient en mauvais état, peut-être à cause de la grande sécheresse.

Leur forme était arrondie ou allongée et leurs dimensions étaient de 2 à 3 mm. au maximum. Fixation au Regaud.

La médulle de ces tubercules montre le caractère de *Genistées* en général. Pas de cellules intermédiaires ordinairement, bien que nous en ayons trouvé quelques-unes dans certains tubercules. Parfois nous trouvons aussi des médulles secondaires. Les cellules spéciales ainsi que leur noyau ne subissent presque aucune hypertrophie. Ce dernier réagit beaucoup et nous le voyons quelquefois persister dans les cellules envahies même après la digestion de la Bactérie (Pl. XXV, Fig. 25). L'écorce est riche en amidon et héberge les faisceaux conducteurs qui sont représentés ici aussi par des stèles binaires. Les cellules de l'endoderme contiennent beaucoup de précipitations dans leur vacuome.

Le développement de la Bactérie des tubercules de *G. pilosa* ressemble tout à fait à celui de la Bactérie des nodosités de *G. florida*. La Bactérie est tout d'abord un court bâtonnet qui évolue en des formes plus ou moins irrégulières, recourbées, arrondies, etc. (Pl. XXV, Fig. 24) et finit par être digérée par les cellules hospitalières. L'évolution de la Bactérie ressemble également, en partie seulement, à celle qui se produit dans les tubercules de *Spartium junceum*.

Certaines cellules spéciales possèdent une vacuole centrale, d'autres sont remplies complètement par le microorganisme.

Nous avons examiné aussi quelques tout petits tubercules, d'à peine 1 mm. de diamètre, et qui montraient déjà une médulle détruite et des Bactéries complètement digérées.

Genista sibirica Reichb. (1).

Les nodosités de cette plante sont lobées et mesurent quelques millimètres de longueur. Fixation au Regaud. La médulle est constituée uniquement par des cellules spéciales. Ces dernières sont à peine hypertrophiées et possèdent, parfois, une grande vacuole centrale (Fig. 10, A. B. C). Le noyau ne s'hypertrophie pas non plus, mais souvent il est un peu déformé. Il résiste longtemps mais finit

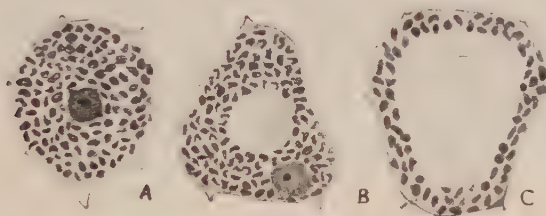


Fig. 10. — *Genista sibirica* Reichb. A et B cellules spéciales pleines de Bactéries très polymorphes. Noyaux non hypertrophiés. C, Cel. sp. à grande vacuole centrale.

par être détruit dans certaines cellules de la base de la médulle. Son nucléole présente des bourgeonnements. Nous avons examiné plusieurs tubercules, dont quelques-uns montrent des médulles secondaires. Le système conducteur est assuré par des stèles binaires. L'écorce du tubercule contient beaucoup d'amidon et même à côté de la médulle, dans certains tubercules, nous trouvons une sorte de poche, constituée par des cellules parenchymateuses, pleines d'amidon (Fig. 11). Dans la zone basilaire du tubercule tous ces grains d'amidon sont digérés.

La Bactérie est un court bâtonnet qui s'allonge jusqu'à 3 μ puis se recroqueville, se gonfle et commence à perdre sa chromophilie. Certains microorganismes ne se gon-

1. Vilmorin, Verrières.

flent pas tandis que d'autres affectent des formes presque sphériques.

Nous avons remarqué dans les cellules de l'écorce de la

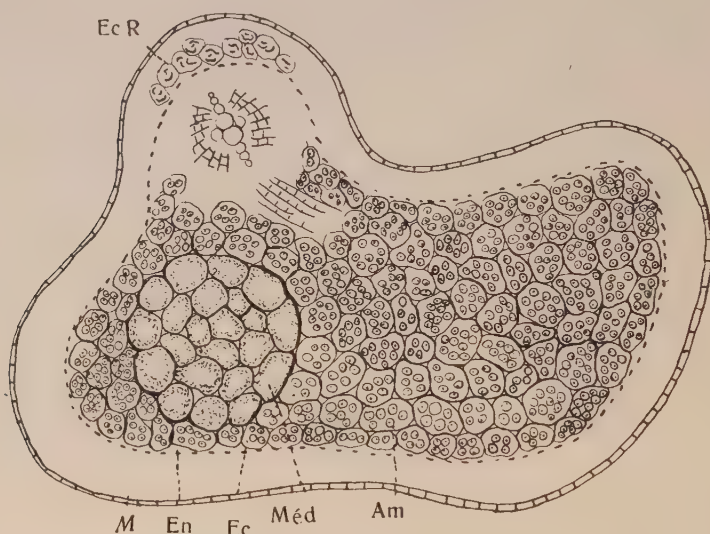


Fig. 11. — *Genista sibirica* Reicbh. Coupe transversale d'un tubercule. M. - manteau ; En. - Endoderme ou voile du tubercule ; Ec. - écorce du tub. ; Méd. - médulle ; Am. - cellules parenchymateuses pleines d'amidon formant une sorte de poche ; Ec. R. - écorce de la racine dont les cellules sont envahies par les hyphes d'un champignon.

racine le mycélium d'un champignon. Les hyphes sont cloisonnés et larges de quelques μ. Les articles sont uninucléés, toutefois nous n'avons pas observé d'organes de reproduction de ce champignon.

Genista tinctoria L.

Nous avons fixé deux fois des tubercules de *Genista tinctoria* au Regaud. La première récolte a été opérée sur un pied provenant du jardin des plantes du Muséum, la deuxième sur un échantillon que nous avons arraché nous-même dans un champ à Besse-en-Chandesse. Les nodosi

tés sont de taille différente. Il y en a de plus gros mesurant jusqu'à 4 mm. et de tout petits ne dépassant pas 1 mm.

L'examen des coupes, de plusieurs tubercules montre des médulles secondaires. Les cellules intermédiaires font complètement défaut, tandis que les cellules spéciales forment une sorte de mosaïque. Ces cellules hospitalières sont légèrement hypertrophiées, et possèdent souvent une vacuole centrale, plus ou moins grande. Leur noyau est un peu gonflé et déformé avec un nucléole qui bourgeonne. Ce qui importe, c'est que les noyaux résistent souvent, même après la digestion des Bactéries. Dans ce cas-là, ils ont un petit nucléole et une structure réticulée. Nous avons l'impression que chaque cellule réagit à sa façon, car on peut voir en effet à côté de cellules où les noyaux ont bien résisté, d'autres où ces derniers ont été complètement détruits comme le microorganisme. Ce dernier est un bâtonnet mesurant jusqu'à 0,5 μ à 0,6 μ, qui se déforme, se gonfle, et à la fin s'arrondit un peu. Lorsque la digestion des Bactéries commence dans les cellules spéciales de la zone basilaire du tubercule, nous voyons qu'elle se produit pour presque tous les microorganismes de la cellule hospitalière, ce qui fait que nous trouvons les bâtonnets et les formes gonflées à un même degré de décoloration.

Dans quelques tubercules nous avons remarqué que le microorganisme se vacuolise avant la digestion. Dans la zone moyenne le parasite devient très polymorphe, et nous pouvons assimiler ces éléments à des petits Bactéroïdes, ensuite, certains individus se gonflent, s'arrondissent un peu, mais sans affecter la forme d'une petite sphère.

La Bactérie de *G. tinctoria* ressemble beaucoup par son évolution à celle de *G. sibirica* et *G. florida*. Cette plante est très riche en amidon et l'écorce des racines est bourrée de gros grains. Nous en trouvons même dans certaines cellules ligneuses du cylindre central de la racine. Dans le tubercule, une partie seulement des cel-

lules de l'écorce est remplie de grains d'amidon, et les cellules du méristème du tubercule abondent en plastes non encore transformés en amyloplastes. Lorsque le tubercule est âgé, l'amidon est complètement digéré et assimilé par la plante en ne laissant que des couches extrêmement minces qui indiquent la place des grains détruits. Ici, comme dans les autres *Genistées*, l'écorce du tubercule renferme de 1 à 6 et même plus de stèles binaires.

Ajoutons, pour finir la description des tubercules des *Genistées*, que nous avons rencontré dans le cylindre central d'une très jeune radicelle incomplètement différenciée une grande quantité de Bactéries ce qui aurait sûrement entravé ultérieurement le développement normal de cet organe.

Petteria ramentacea (Sieb) Presl. (1).

Tubercules nombreux, volumineux, ramifiés et mesurant plus de 1 cm. de longueur. Fixation au Regaud. Les coupes nous ont montré un aspect très caractéristique. Nous avons constaté la présence de médulles secondaires, sans cellules intermédiaires, à cellules spéciales le plus souvent de volume normal, faiblement hypertrophiées (Pl. XXVI, Fig. 1, 2 et 3). S'il existe une vacuole dans les cellules parasitées, elle est toujours centrale, mais généralement ces cellules hospitalières n'en possèdent pas, à cause de l'abondance extrême des Bactéries. Le noyau n'augmente pas beaucoup de volume et dégénère, assez vite, en laissant quelques granulations ou petits amas chromatiques adossés à la périphérie de la vacuole.

Petteria ramentacea est une *Légumineuse* qui n'est pas riche en amidon. En effet, nous n'en rencontrons que quelques petits grains dans les cellules de l'écorce.

L'appareil conducteur de ces tubercules est représenté

1. Vilmorin, Pépinières à Verrières.

par quelques faisceaux, rappelant la structure d'une stèle binaire.

La Bactérie est un bâtonnet dont la longueur ne dépasse pas 1,5 μ au stade initial, puis le microorganisme se gonfle un peu et devient ovoïde. Plus tard encore ces formes sont digérées par la *Légumineuse* ne laissant qu'un résidu amorphe et incolore au milieu de la cellule. Ce qui nous frappe dans ces tubercules c'est l'évolution très prompte de la Bactérie. Les zones sont nettement marquées par les différents stades de la transformation de cette dernière. Nous trouvons que si la Bactérie ne montre pas une grande virulence, les tissus hospitaliers non plus ne manifestent pas une grande résistance, car le noyau dégénère vite et les membranes cellulaires s'amincissent beaucoup.

Laburnum vulgare Gris (1).

C'est notre premier matériel, récolté en juin 1926 en vue de nos recherches sur les nodosités des *Légumineuses*. Sur la racine et les radicelles de chaque échantillon, retiré de la terre avec beaucoup de précautions, on voit une quantité de petits globules, d'aspect régulier et d'une couleur blanchâtre. Ce n'est pas autre chose que les tubercules.

Fixation au Regaud. Médulles secondaires, cellules spéciales peu hypertrophiées et à membranes précocement détruites (Fig. 12, C). Quelquefois les cellules hospitalières possèdent une vacuole centrale ou quelques-unes plus petites et dispersées, ainsi qu'un nombre de minuscules grains d'amidon (Fig. 12, B). Les noyaux des mêmes cellules ne sont presque pas déformés. La Bactérie est un long et fin bâtonnet, dont la forme initiale mesure jusqu'à 1,5 μ (Fig. 12, A). Souvent nous rencontrons deux ou trois bâtonnets réunis à la suite l'un de l'autre, ce qui donne une impression inexacte de la longueur du microor-

1. Jardin des plantes du Mus. d'Hist. Nat. Paris.

ganisme. Ces Bactéries deviennent un peu gonflées à l'une de leurs extrémités. Pendant la destruction des membranes cellulaires le noyau cède aussi et nous le voyons petit à petit se désagréger complètement. Dans la médulle il y a quelques rares cellules intermédiaires, pleines de petits grains d'amidon.

Deuxième fixation au Regaud (1). Nodosités mesurant jusqu'à 2-3 mm. de diamètre. Même aspect que dans les tubercules de la première fixation. Médulles secondaires. Pas de cellules intermédiaires. Cellules spéciales,

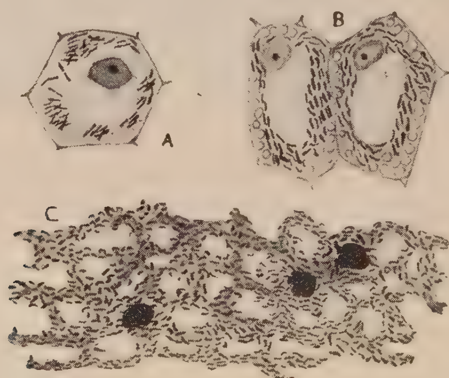


Fig. 12. — *Laburnum vulgare* Gris. A. - jeune cellule envahie par les Bactéries ; B. - cellules spéciales à noyaux non hypertrophiés et possédant de tout petits grains d'amidon. C. - Amas de Bactéries, membranes cellulaires détruites, les points noirs sont des restes de la chromatine nucléaire.

légèrement hypertrophiées, pleines de Bactéries et possédant une couche pariétale de gros grains d'amidon (Fig. 13). L'écorce est formée par quelques assises, dont les cellules sont remplies d'amidon. Plus tard les membranes cellulaires se résorbent mais le noyau résiste assez longtemps. Bactérie identique à celle des premiers tubercules examinés de cette plante.

Troisième fixation au Bouin (août 1926). Cette fois-ci

1. Même provenance que les tubercules de la première fixation.

les tubercules proviennent de grands arbrisseaux, cultivés aux pépinières de Vilmorin. Ils étaient de forme plutôt allongée et de différentes grosseurs, mais ne dépassaient pas 3 mm. Mêmes caractères que chez les tubercules précédemment examinés, cependant avec quelques petites différences. Ici nous trouvons déjà des cellules intermé-

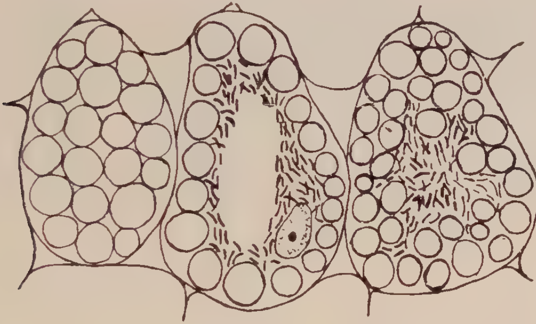


Fig. 13. — *Laburnum vulgare* Gris. Une cellule de l'écorce du tubercule pleine de gros grains d'amidon, et 2 cellules spéciales contenant des Bactéries et munies d'une couche pariétale de grains d'amidon.

diaires bourrées d'amidon (Fig. 14, E.). Lorsqu'il y a dans la médulle plusieurs cellules spéciales à membranes détruites, il s'y forme une sorte de cavité à la périphérie de laquelle se disposent les Bactéries. On peut dire que l'hypertrophie des cellules hospitalières est un peu plus accentuée que dans les autres tubercules de *Laburnum vulgare* et qu'elles ne contiennent presque pas de grains d'amidon (Fig. 14. E). La disposition de la Bactérie est un peu bizarre, surtout là où nous trouvons le microorganisme réuni en masse compacte généralement en forme de disques (Fig. 14 G et F) comme dans les tubercules de *Genista hispanica*. La Bactérie est un bâtonnet long et fin qui devient assez polymorphe, c'est-à-dire se recourbe, se gonfle un peu à l'une de ses extrémités, etc. (Fig. 14 H).

Dans une préparation colorée au vert de méthyle et à la safranine, nous avons observé quelques noyaux en divi-

sion. Les fibres du fuseau sont nettes, colorées en rose pâle, tandis que les chromosomes sont d'un rouge vif (Fig. 14. A. B. C. et D.).

Les faits importants sont la division du noyau s'effectuant même dans des cellules où la Bactérie a déjà pénétré et la disposition du microorganisme tout près des deux pôles du

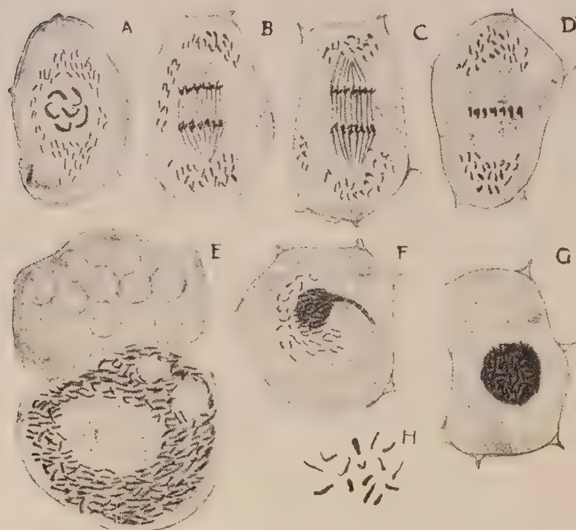


Fig. 14. — *Laburnum vulgare*. A., B., C., et D. - cellules dont les noyaux sont en division malgré la présence de Bactéries réunies aux deux pôles du fuseau ; E. - Cellule intermédiaire remplie de grain d'amidon et cellule spéciale ; F. et G. - Une disposition plus particulière des Bactéries dans des cellules spéciales ; H. - Formes de Bactéries.

fuseau. Ce phénomène a été très bien observé par Milovidov. L'auteur considère que c'est une manière de propagation de la Bactérie, car les deux cellules filles, après la division, seront chacune infestées.

Les cordons libéro-ligneux de ces tubercules sont de simples stèles binaires.

Ajoutons encore que dans les cellules du manteau nous trouvons des filaments mycéliens cloisonnés et uninucléés.

CYTISINAE

Cytisus capitatus Jacq. (1).

Tubercules récoltés au mois de Juin, fixés au Regaud, d'une forme allongée et disposés par petits groupes bien distincts. Médulle composée uniquement de cellules spéciales, légèrement hypertrophiées ainsi que leur noyau (Pl. XLIII). La Bactérie, au moment de l'envahissement des cellules hospitalières, a une forme de bâtonnet allongé qui mesure jusqu'à 2 μ (Pl. XXVI, Fig. 6). Dans la zone moyenne, nous trouvons la Bactérie un peu plus allongée et recourbée. En outre, dans cette zone les cellules à Bactéries possèdent une couche pariétale de gros grains d'amidon (Pl. XXVI, Fig. 7). Enfin, dans la zone basilaire, les grains d'amidon ont été utilisés par la plante, après avoir été solubilisés et du microorganisme il ne reste qu'une masse amorphe. Dans cette dernière on remarque encore quelques Bactéries chromatiques, recourbées, boursouflées, dichotomes que nous pouvons prendre pour des Bactéroïdes (Pl. XXVI, Fig. 8). A ce stade la Bactérie mesure jusqu'à 4,5 μ. Le passage de la forme de bâtonnet à celle de Bactéroïde est très intéressant à observer. Les cellules de l'écorce sont pleines de grains d'amidon. Comme dans tous les tubercules de Genistées les cordons libéroligneux sont des stèles binaires.

Examinant les coupes d'un très jeune tubercule, nous avons observé un fait qui a été décrit par M. Milovidov dans les nodosités du Lupin. Il s'agit notamment de la formation d'un capuchon de Bactéries à chaque pôle du fuseau mitotique (Pl. XXVI, Fig. 5). Cet auteur s'exprime ainsi : «... *En effet, les cellules du tissu bactéroïdien conservent leur pouvoir de division mitotique malgré la pré-*

1. Pépinières de Vilmorin à Verrières.

sence d'une grande quantité de Bactéries... Des figures de caryokinèse peuvent être observées en grand nombre et à toutes les phases. Le fait le plus curieux est que les Bactéries se répartissent dans les cellules-filles, au cours de la division, en deux lots à peu près égaux, affectant la forme d'un capuchon. Ces capuchons sont placés aux pôles du fuseau mitotique et semblent repoussés par lui » (p. 159 p. 198). M. Milovidov trouve que les cellules du tissu bactéroïdien conservent, pendant longtemps, la capacité de se diviser par mitoses, en dépit des Bactéries vivantes qu'elles contiennent. Ce fait n'est cependant pas général, mais tout au contraire, dès la pénétration du microorganisme les cellules envahies cessent de se diviser. Le cas du Lupin est une exception, ainsi que celui du tubercule de *Cytisus capitatus*, dont nous parlons plus haut. Parmi tant de jeunes cellules envahies, quelques-unes seulement présentent des noyaux en division et au stade de la métaphase on trouve les Bactéries disposées en capuchons aux pôles du fuseau mitotique. Naturellement les deux cellules-filles recevront ainsi chacune leur portion de Bactéries et ceci contribue à l'infestation des cellules du tubercule. Mais faut-il par là conclure avec M. Milovidov qu'il s'agit d'un troisième mode de propagation des Bactéries dans les tubercules et que « l'existence de dispositifs de contamination spéciaux (filaments infestants) devient superflue ? » Il est évident que la division du noyau d'une cellule déjà infestée ainsi que la disposition de la Bactérie aux deux pôles du fuseau mitotique représentent des phénomènes très intéressants, mais qui rentrent, malgré tout, dans le cadre des phénomènes exceptionnels. En tous cas nous confirmons les observations de M. Milovidov en ce qui concerne les divisions des cellules déjà envahies et la disposition des Bactéries en capuchons aux deux pôles du fuseau mitotique.

Dans un petit tubercule dont le développement était cependant avancé, nous avons trouvé la Bactérie complètement digérée à l'intérieur des cellules hospitalières, tan-

dis que dans les espaces intercellulaires cheminait une quantité de Bactéries, courtes et très chromatiques (Pl. XXVI, Fig. 4).

Cytisus purgans (L.) Willek (1).
(*Sarothamnus purgans* G. et G.)

Nous avons recueilli quelques tubercules de forme allongée, mesurant de 1 à 4 mm. de longueur. Fixation au Regaud. Examinant les coupes, nous avons trouvé une médulle constituée uniquement par des cellules spéciales. Ces dernières ont subi une légère hypertrophie et dans la zone moyenne et basilaire elles possèdent une grande vacuole centrale (Pl. XXVI, Fig. 10). Cependant nous avons trouvé des tubercules où les cellules spéciales étaient remplies de Bactéries et sans aucune vacuole.

Le noyau des cellules envahies ne montre pas non plus une hypertrophie notable, mais se trouve très déformé (Pl. XXVI, Fig. 11, 12 et 13). Il a l'apparence d'une tache claire, parsemée de plusieurs petits points chromatiques. Son nucléole bourgeonne souvent. Il est probable que les petits points chromatiques que nous remarquons à l'intérieur du noyau proviennent de ce phénomène de bourgeonnement. En tous cas le noyau persiste souvent même après la digestion de la Bactérie.

Initialement le microorganisme qui provoque la formation de ces nodosités est un court bâtonnet qui mesure à peine 1,5 μ, puis s'allonge, se recourbe, se gonfle pour nous donner l'aspect d'une Bactérie très polymorphe. On assiste ensuite à une vacuolisation et dans la zone basilaire le parasite est complètement digéré. Au même endroit nous trouvons une quantité de filaments muqueux qui cheminent dans les espaces intercellulaires et forment des renflements de place en place (Fig. 15 A. B. C. D. E.

1. Besse (Auvergne), août 1926.

F.). Quelquefois ces renflements sont énormes, de la taille d'une cellule et même plus grands (Fig. 15 G.). Nous avons remarqué en outre, qu'une grande partie des filaments muqueux est vide et sans Bactéries. Il y a lieu de supposer

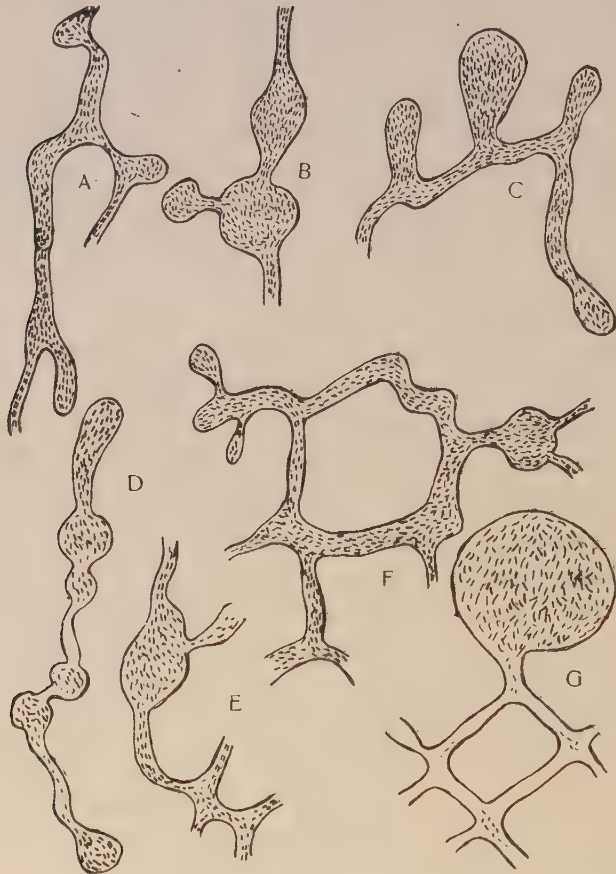


Fig. 15. — *Cytisus purgans* (L.) Willek. A., B., C., D., E., F. - filaments muqueux intercellulaires pleins de Bactéries ; G. - un gros renflement d'un de ces filaments.

que la substance qui forme ces filaments muqueux n'a pas pu être résorbée, tandis que les Bactéries se sont toujours dirigées en avant pour venir dans ces renflements comme dans un réservoir (Fig. 15 G.). Nous admettons

qu'il y a une seconde infestation dans ces cas-là et que la Bactérie ne trouvant plus les conditions nécessaires à son développement reste toujours englobée dans cette matière gélatineuse qu'elle sécrète. Nous voulons mentionner que dans ces vesicules la Bactérie s'allonge un peu, se développe ainsi plus à l'aise que dans les filaments muqueux.

Cette Légumineuse n'est pas riche en amidon. Nous en trouvons quelques petits grains dans les cellules de la zone moyenne et dans les cellules de l'écorce. Les faisceaux conducteurs sont des stèles binaires plus ou moins parfaites.

Cytisus Purpureus Scop. (1).

Nous avons fixé les tubercules de cette plante à deux reprises à 15 jours d'intervalle. Fixation au liquide de Regaud. Bien que mesurant à peine 1 mm. de diamètre, les nodosités ont déjà l'intérieur complètement détruit. Toute la médulle est désorganisée. Nous avons pu déterminer la forme de la Bactérie par les quelques rares cellules spéciales adossées aux cellules du voile qui restaient intactes. Ce sont de gros bâtonnets courts, mesurant environ 1 μ à 1,5 μ de longueur. Quelle est la cause de la désorganisation de ces tubercules ? Sont-ce les conditions défavorables du sol, ou la trop grande virulence du microorganisme ? Nous l'ignorons.

Dans les tissus du manteau nous avons remarqué de gros filaments mycéliens, cloisonnés et uninucléés.

Cytisus scoparius Lk (2).
(*Sarothamnus scoparius* Wimm.)

Tubercules récoltés au mois de juin et fixés au Regaud. Leur grosseur varie entre 1 et 2 mm. de diamètre. Médulles

1. Jardin des Plantes du Mus. d'Hist. nat. Paris.
2. Jardin des Plantes du Mus. d'Hist. nat. Paris.

secondaires fréquentes. Les cellules intermédiaires sont totalement absentes et les cellules spéciales et leurs noyaux sont à peine hypertrophiés. Au commencement les cellules hospitalières possèdent quelques petites vacuoles, et ces dernières se réunissent plus tard pour former une grande vacuole centrale (Pl. XXVI, Fig. 14 et 15). Les Bactéries sont des bâtonnets très chromophiles qui remplissent entièrement les cellules spéciales et dans ce cas nous n'apercevons aucune vacuole.

Ces tubercules sont pauvres en amidon et c'est à peine si nous en avons trouvé quelques petits grains.

Parmi les nodosités examinées nous en rencontrons une dont les coupes présentent des aspects très particuliers. Elle renferme des cellules à Bactéries dispersées un peu partout dans les tissus du tubercule, aussi bien dans la région du manteau que dans le voile et l'écorce. Les cellules du manteau surtout sont envahies par plusieurs espèces de Bactéries (Fig. 17 A) et par le mycélium d'un champignon. En outre le tubercule entier est traversé par des nématodes. Nous avons observé une pareille désorganisation dans un tubercule de *Coronilla hiberica*, qui a été envahi, en même temps que par la Bactérie par des hyphes mycéliens et par un nématode. Il n'y a qu'une différence, c'est que chez *C. hiberica* les hyphes appartiennent à un *Pythium*, tandis que dans le cas présent les périthèces, les asques et les ascospores nous permettent de constater que les hyphes appartiennent à un *Ascomycète*. D'autre part, ces organes de reproduction sexuelle ressemblent étonnamment à ceux de l'*Ascomycète* que nous avons trouvé dans les tissus du manteau d'un tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes* et d'un autre tubercule de *Brachysema lanceolatum*. A notre grand regret nous n'avons pas pu retrouver tous les stades successifs du développement du périthèce, des asques et des ascopores. Néanmoins nos observations suffisent à l'identifier à l'Ascomycète du tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes*. Ainsi les

filaments ont le même aspect, les périthèces ont la même taille et les asques et les ascospores la même grosseur, etc. En plus de cela, le mycélium forme comme dans les tubercules d'*Astragalus alopecuroïdes* et de *Brachysema lanceolatum* des chlamydospores identiques.

Nous voulons décrire l'aspect de ce tubercule envahi par trois parasites différents (Fig. 16). Les coupes nous montrent une racine binaire dont l'endoderme et l'écorce, qui ont proliféré, entourent le tubercule. Nous sommes en présence de deux médulles secondaires. Une de ces médulles est tout à fait normale avec des cellules spéciales, bourrées de Bactéries et quelques filaments mycéliens, l'autre au contraire est complètement désorganisée. Son centre est occupé par un très grand périthèce mesurant 85 μ de diamètre, et son écorce abrite des filaments mycéliens. Quelques cellules spéciales seulement remplies de Bactéries représentent les vestiges de l'ancienne médulle. Notons que les deux premières assises cellulaires du périthèce hébergent un grand nombre de Bactéries. Un autre fait assez intéressant à signaler c'est que les cellules envahies par le mycélium de l'Ascomycète contiennent des précipitations très caractéristiques non chromophiles conservant leur teinte naturelle jaune verdâtre. Ces précipitations nous permettent de découvrir la présence du champignon même au faible grossissement du microscope. En voyant une zone renfermant de pareilles précipitations nous recherchons tout de suite les filaments mycéliens et leurs organes de reproduction. Il se peut qu il y ait une relation entre la présence du champignon et celle de ces précipitations. Le nématode se trouve installé dans les cellules du manteau, mais souvent il pénètre plus profondément dans les tissus du tubercule, c'est-à-dire jusque dans les cellules de l'écorce. La plupart des périthèces se trouvent parmi les cellules du manteau et on les rencontre exceptionnellement au centre de la médulle. Les filaments mycéliens sont des hyphes cloisonnés, uninucléés et d'un diamètre

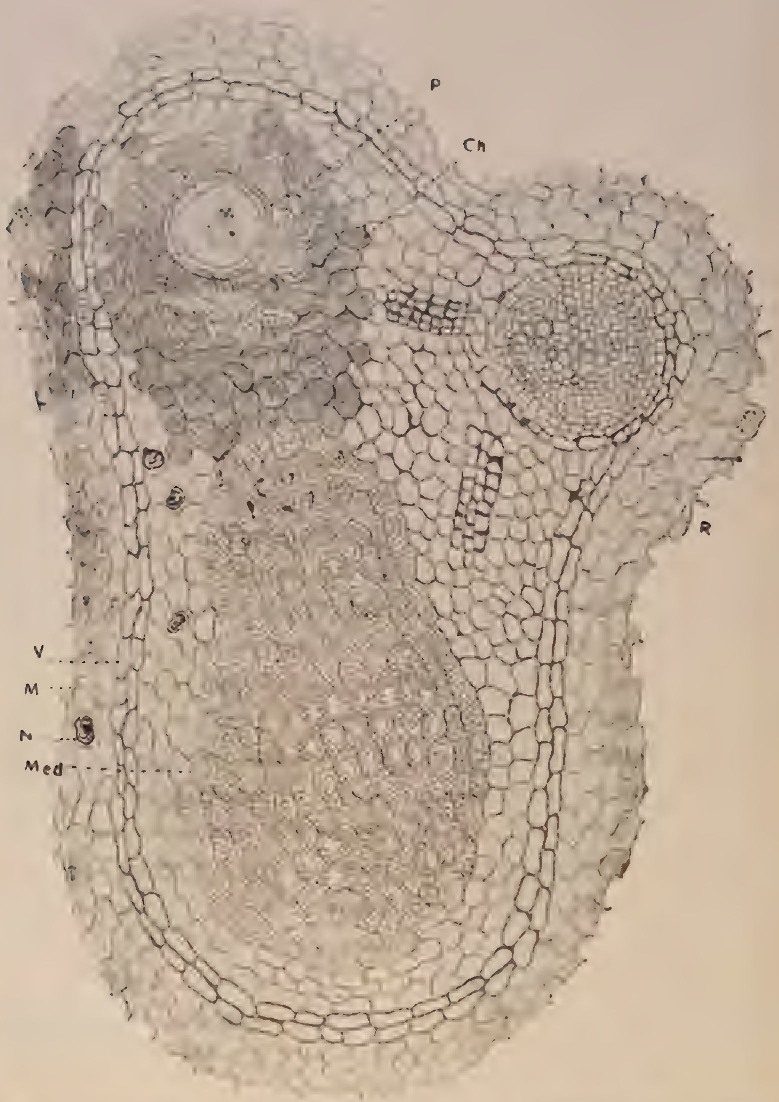


Fig. 16. — *Cytisus scoparius* Lk. Coupe d'un tubercule. Med. - médulle N - .nématode ; M. - manteau ; V. - voile ; P. - périthèce ; Ch. - champignon ; R. - raciné.

de 4 à 5 μ. Nous donnerons la description complète du Champignon dans un autre chapitre.

Dans une coupe tout à fait superficielle, c'est-à-dire n'atteignant pas la médulle, nous trouvons des cellules occupées par des microorganismes que nous rencontrons pour la première fois dans les tubercules. Ce sont de longs



Fig. 17. — *Cytisus scoparius* Lk. A. - Cellules du manteau pleines de différentes espèces de Bactéries ; B. - Cellules également du manteau contenant un microorganisme... ?

et très fins bâtonnets, renflés au milieu ou à leurs extrémités. Il se peut que ce soient des stades de sporulation d'une Bactérie (Fig. 17 B). Les faisceaux conducteurs sont des stèles binaires.

Deuxième fixation au REGAUD de : *Cytisus scoparius* var. *Andreanus* Hort (1). Sur les racines de cette plante

1. Pépinières de Vilmorin à Verrières.

ligneuse, nous avons recueilli au mois de juin quelques petits tubercules arrondis. Voilà ce que nous trouvons dans les coupes de ces nodosités : des médulles secondaires, formées uniquement par des cellules spéciales qui possèdent une couche pariétale de grains d'amidon et sont très faiblement hypertrophiées (Pl. XXVI, Fig. 19, 20 et 21). La bactérie qui est un bâtonnet au commencement, évolue en un microorganisme très déformé et recourbé, puis se renfle et devient une sphérule qui conserve souvent un prolongement comme une petite queue. Mais ce qui est très caractéristique pour cette Bactérie c'est qu'elle s'arque fortement à un moment de son développement, avant de se renfler à l'une de ses extrémités. Dans les différents tubercules la forme initiale de la Bactérie mesure entre 0,6 à 1μ, tandis que la forme renflée a un diamètre de $1{,}5\mu$. Nous remarquons qu'une partie des Bactéries dans la zone de la base ont perdu leur chromophilie, mais nous n'avons pas assisté à une digestion complète du parasite. Il est bien probable que les nodosités que nous avons examinées se trouvaient à un stade assez jeune et que la digestion des Bactéries n'était pas encore survenue. Le noyau résiste assez bien. Il se déforme un peu et son nucléole montre des bourgeonnements (Pl. XXVI, Fig. 21).

Les cellules de l'écorce du tubercule sont bourrées de grains d'amidon, ainsi que les cellules de l'écorce de la racine. Les faisceaux conducteurs sont des stèles binaires qui montrent certains passages à une structure de faisceaux collatéraux.

Dans ces tubercules de *Cytisus Scoparius* var. *Andreanus* comme dans ceux de la première fixation de *Cytisus Scoparius* nous trouvons la présence du mycélium et des organes de reproduction de l'*Ascorhiza leguminosarum.*

Troisième fixation des tubercules de *Cytisus scoparius* au Regaud.

Cette fois les nodosités ont été recueillies pendant les vacances de 1926 sur plusieurs pieds de Genêts qui fleu-

rissaient à Besse-en-Chandesse (Auvergne) dans les environs du lac Pavin. Leur forme était allongée et quelques-unes mesuraient jusqu'à 6 mm. de longueur. Ce matériel nous a montré des différences assez grandes en comparaison des autres fixations de la même espèce, mais ne provenant pas du même endroit. La médulle, qui est quelquefois subdivisée en médulles secondaires, contient des cellules spéciales et des cellules intermédiaires. Ces dernières manquent dans les médulles des nodosités des deux premières fixations. Il y a aussi une grande abondance de grains d'amidon qui remplissent les cellules de l'écorce, et les cellules intermédiaires en formant une couche pariétale dans les cellules hospitalières (Pl. XXVI, Fig. 17). L'hypertrophie des cellules spéciales est très prononcée ainsi que celle du noyau, dont le nucléole bourgeonne souvent. Dans les cellules de la base le noyau se trouve complètement désorganisé.

D'après nos observations nous dégageons la conclusion suivante : Quand le noyau est très fortement attaqué, dès la pénétration du filament muqueux, il est condamné à périr tôt ou tard. Mais si dans les cellules où le microorganisme est en voie de digestion, le noyau persiste encore, c'est que la Bactérie n'a pas fait irruption en masse autour du noyau et que ce dernier a eu le temps de réagir.

Certaines cellules spéciales possèdent de grandes vacuoles centrales, d'autres pas du tout. La forme initiale de la Bactérie mesure 0,6 μ à 0,7 μ de longueur, puis s'allonge rapidement, se gonfle en formant des éléments cylindriques, qui s'arrondissent de plus en plus et deviennent de véritables petites sphères. Après le stade sphérulaire la digestion commence, et la Bactérie devient de moins en moins chromophile (Pl. XXVI, Fig. 18). Dans les tubercules âgés, vers la zone basilaire il ne reste plus des Bactéries qu'un résidu albuminoïde, et celui-ci étant à son tour utilisé par la plante nous trouvons des cellules presque vides avec quelques débris amorphes. Dans presque tous

les tubercules de différents Cytises nous trouvons que les Bactéries passent par un stade de bâtonnets renflés, recourbés, recroquevillés, tandis que les nodosités de la dernière fixation de *Cytisus scoparius*, dont nous parlons ici, ne nous montrent plus ces formes, ou très rarement. Le bâtonnet se gonfle et devient une sphérule, plus ou moins régulière, d'un diamètre de 1,5 μ.

Vers le sommet du tubercule, non loin du point de végétation, parmi les jeunes cellules du méristème, nous trouvons une grande quantité de filaments muqueux. Tantôt ces derniers sont fins et ne contiennent qu'une rangée de Bactéries, tantôt ils sont plus gros, renflés par place et surtout au contact du noyau (Pl. XXVI, Fig. 16). Ces branches du filament muqueux ne se résorbent pas facilement aussi nous les rencontrons même dans des cellules de la zone moyenne et de la zone basilaire, conservées intactes (Pl. XXVI, Fig. 18). Ils sont toujours très visibles, cheminant d'une cellule à l'autre, s'amincissant en traversant les membranes et se gonflant immédiatement à la sortie en les écartant. Quelquefois cependant ils traversent les membranes sans subir aucun changement morphologique. Dans les préparations colorées à l'hématoxyline les ramifications du filament muqueux se colorent en gris foncé et les Bactéries qu'elles contiennent en noir. L'emploi de la triple coloration nous a donné de très bons résultats. Les cellules prenaient l'orange, ainsi que le noyau, le nucléole, la Safranine et les Bactéries du filament muqueux étaient nettement violettes. La figure 1 dans le Pl. XXVII nous représente quelques cellules du méristème où arrive le filament muqueux, porteur des Bactéries colorées en violet. La triple coloration nous permet, par le fait qu'elle colore les Bactéries en violet jusqu'au commencement de la diminution de leur chromophilie d'observer les différents stades de la perte de chromatine lorsque cette dernière survient. Comme toutes les Bactéries ne perdent pas simultanément leur chromophilie nous trouvons certaines

cellules spéciales de la zone basilaire renfermant des sphérules jaunes (orange G.) c'est-à-dire presque sans chromatine et pour lesquelles la digestion est commencée, des sphérules roses avec peu de chromatine, se colorant par la Safranine, et des sphérules violettes très chromatiques prenant le violet (Pl. XXVII, Fig. 2). Cette même coloration de Flemming nous a permis de voir en outre un phénomène très intéressant. Dans la zone basilaire, beaucoup de cellules hospitalières ne contiennent plus que quelques sphérules incolores et des résidus albuminoïdes. La Bactérie est déjà digérée et l'amidon dans les cellules intermédiaires voisines est également utilisé. Dans les espaces intercellulaires enfin et même dans les cellules presque vides, circulent de gros filaments muqueux, mesurant plusieurs μ de diamètre (Pl. XXVII, Fig. 3 et Fig. 18 dans le texte). Très souvent ces filaments déversent leur contenu dans ces cellules pour la deuxième fois hospitalières et on voit ressortir en violet les bâtonnets de la deuxième infestation sur la masse jaunâtre albuminoïde et partiellement amorphe, laissée par les premières Bactéries. S'agit-il vraiment d'une deuxième infestation ? Nos observations nous permettent de répondre affirmativement. On peut se demander aussi si la même Bactérie est l'agent de cette seconde infestation, et dans l'affirmative pourquoi les ramifications du filament muqueux sont aussi grosses, etc. ? Nous supposons, que la deuxième infection se fait par la même Bactérie et nous nous expliquons la grosseur inusitée des filaments muqueux par le fait que ces derniers n'ont plus à traverser de jeunes tissus se défendant vigoureusement, mais des cellules déjà en grande partie détruites et ne pouvant pas offrir une grande résistance. La Bactérie qui se trouve dans le sol ne s'infiltre plus dans les tissus du vieux tubercule à faible résistance par des filaments fins, mais par des tubes plus volumineux. Quelques-unes de ces Bactéries s'allongent et grossissent un peu lorsqu'elles pénètrent dans les cellules ; la plus grande

partie se multiplie peut-être, en conservant leur forme initiale de courts bâtonnets et leur forte chromophilie. Ajoutons que les cordons libéro-ligneux montrent des pas-

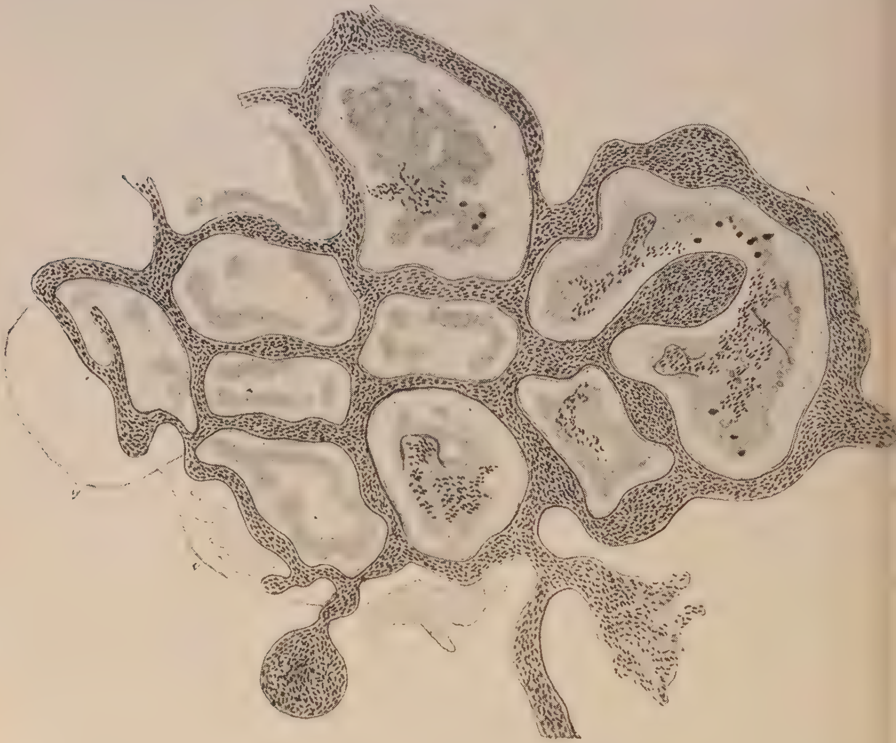


Fig. 18. — *Cytisus scoparius* Lk. Gros filaments muqueux cheminant dans les espaces intercellulaires entre les cellules spéciales et y pénétrant dans ces dernières où le premier hôte est déjà digéré.

sages des stèles binaires à des faisceaux collatéraux.

Les tubercules de cette *Légumineuse* ont été étudiés par M. P.-A. Dangeard. Nous y trouvons en grande partie les mêmes caractères que ce savant a décrits.

Cytisus sessilifolius L. (1).

Tubercules de forme ovoïde, mesurant de 1 à 2 mm. de longueur. Fixation au Regaud. L'aspect des coupes ressemble à celui de la plupart des coupes des tubercules des autres Cytises. A l'intérieur de la nodosité nous trouvons souvent des médulles secondaires, c'est-à-dire de petits îlots de cellules spéciales. Les cellules intermédiaires font défaut et les cellules hospitalières ne sont presque pas hypertrophiées (Pl. XXVI, Fig. 22 et 23). Les noyaux sont légèrement déformés et disparaissent complètement dans la zone basilaire. Dans certaines cellules spéciales nous trouvons une grande vacuole centrale, dans d'autres nous en apercevons quelques petites ou pas du tout. Les membranes des cellules hospitalières ne sont pas très résistantes et sont désorganisées très tôt. Nous avons examiné des tubercules relativement petits et qui montraient déjà des cellules spéciales à membranes complètement déchirées et détruites, ce qui formait des cavités au milieu de la médulle. Les Bactéries sont très chromophiles et se colorent fortement en noir par l'hématoxyline ferrique. La forme initiale a de 0,6 μ à 0,9 μ de longueur. On croit parfois voir des éléments bactériens beaucoup plus longs, qui ne sont en réalité qu'une chaînette de 2 à 4 Bactéries. Ces dernières s'allongent, se recourbent fortement puis se gonflent et forment des sortes de petits corpuscules cylindriques ou sphériques irréguliers (Pl. XXVI, Fig. 23). La digestion de la Bactérie qui coïncide avec la destruction des membranes cellulaires commence après ce stade. Quelquefois la digestion des Bactéries commence plus tôt, lorsque le microorganisme a encore la forme d'un long bâtonnet recourbé ou non. Le filament muqueux est très fin. Les cellules de l'écorce contiennent de gros grains d'amidon qui

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

est digéré dans la zone basilaire du tubercule. Les stèles binaires qui se trouvent dans l'écorce montrent des passages vers des faisceaux collatéraux.

Parmi les cellules spéciales détruites, nous trouvons une quantité de filaments muqueux plus gros cheminant dans les espaces intercellulaires.

Les cellules du manteau contiennent quelques filaments mycéliens et quelques groupes de Bactéries.

Cytisus virescens (1).

Les tubercules sont sphériques ou légèrement ovoïdes. Fixation au Flemming. Les coupes montrent une médulle proprement dite composée uniquement par des cellules spéciales (Pl. XXVI, Fig. 25), légèrement hypertrophiées et possédant parfois une vacuole centrale. Le noyau des cellules hospitalières est également hypertrophié et présente une structure réticulée avec un nucléole et quelques grains chromatiques (Pl. XXVI, Fig. 26 et 27). Le nucléole bourgeonne, non seulement dans les cellules envahies, mais même dans les cellules du méristème. Le microorganisme des tubercules de *Cytisus virescens* est un fin bâtonnet de 0,6 μ à 0,7 μ de longueur, puis en s'allongeant il se renfle à l'une de ses extrémités, se recourbe légèrement et commence à perdre sa chromophilie. En tous cas nous n'avons pas observé de digestion pour une grande partie des Bactéries. Vers la base du tubercule, les membranes des cellules hospitalières sont déchirées et résorbées de place en place.

Les cellules de l'écorce contiennent une grande quantité de grains d'amidon à hile central.

Au sommet du tubercule nous avons remarqué une mitose s'effectuant dans une cellule déjà envahie par les Bactéries, mais ces dernières n'étaient pas disposées en

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, août 1926.

capuchon aux pôles du fuseau mitotique, comme c'était le cas chez *Cytisus capitatus* (Pl. XXVI, Fig. 24). Cordons libéro-ligneux comme chez les autres cytises avec des passages de stèle binaire aux faisceaux collatéraux à bois externe.

TRIFOLIEAE

Ononis Natrix L. (1).

Nodosités de forme allongée. Fixation au Regaud. Dans certains tubercules il y a des médulles secondaires. Cellules spéciales très hypertrophiées et mélangées à quelques rares petites cellules intermédiaires, bourrées de gros grains d'amidon (Pl. XXVIII, Fig. 8). Les cellules hospitalières ont souvent une grande vacuole centrale dans laquelle nous trouvons un léger précipité, peu chromophile (Pl. XXVIII, Fig. 8). Autour de cette vacuole la Bactérie forme une couronne qui ne touche pas à la membrane cellulaire contre laquelle se trouvent adossés de gros grains d'amidon. Le noyau des cellules spéciales s'hypertrophie également, son nucléole se vacuolise et bourgeonne. Nous voyons le noyau persister longtemps mais il se désagrège petit à petit dans la zone basilaire. Au moment de sa pénétration dans les tissus, la Bactérie est un court bâtonnet de quelques dixièmes de μ, qui s'allonge par la suite, grossit, se renfle à l'une de ses extrémités, devient piriforme et finalement commence à perdre sa chromophilie avant d'être complètement digéré. Nous trouvons souvent quelques Bactéries dans les cellules intermédiaires parmi les grains d'amidon (Pl. XXVIII, Fig. 8). Vers le sommet du tubercule on distingue le filament muqueux ramifié, qui forme de véritables vésicules au contact du noyau et au passage d'une cellule à l'autre (Pl. XXVIII, Fig. 9, 10).

Les membranes cellulaires sont écartées au point de pas-

1. Vilmorin, Verrières, juin 1926.

sage du filament muqueux où celui-ci se gonfle pour s'amincir de nouveau dans la cellule où il pénètre et donne des ramifications et des vésicules au voisinage du noyau (Pl. XXVIII, Fig. 10). Quelquefois nous le trouvons cheminant dans les espaces intercellulaires, écartant les membranes à son passage et envoyant des ramifications à l'intérieur des cellules limitrophes. Nous remarquons aussi que le filament muqueux persiste même dans une zone où les Bactéries sont très avancées dans leur évolution (Pl. XXVIII, Fig. 11 et 12).

Les ramifications du filament sont très caractéristiques (Pl. XXVIII, Fig. 13 et 14). L'écorce de ces tubercules est formée de quelques assises cellulaires pauvres en amidon. Les faisceaux conducteurs sont des stèles binaires avec passage à des faisceaux collatéraux.

Ononis repens L. (1).

Cette espèce a été récoltée parmi quelques autres *Légumineuses* ligneuses, dans un terrain sec et sablonneux qui ne favorisait vraisemblablement pas le développement de tubercules abondants. Les rares nodosités que nous avons trouvées en bon état ont une forme allongée. Fixation au Regaud. Les coupes montrent beaucoup de ressemblance avec les tubercules d'*Ononis Natrix*.

Les cellules spéciales possèdent de grandes vacuoles centrales, avec des précipitations, mais sont souvent un peu moins volumineuses. La Bactérie a presque la même évolution, bien qu'elle s'allonge plus que la Bactérie des tubercules d'*Ononis Natrix* avant de s'arrondir. A l'état de longs et gros bâtonnets mesurant jusqu'à 3 μ ce microorganisme a une disposition radiale dans la cellule hospitalière par rapport à la membrane cellulaire (Pl. XXVIII, Fig. 6). La Bactérie prend un aspect piriforme ou légère-

1. Besse en Chandesse (Auvergne), août 1926.

ment sphérique (Pl. XXVIII, Fig. 7), mais n'échappe pas à la digestion par la cellule hospitalière. Cette digestion commence par les éléments qui se trouvent au centre des cellules infestées. A la fin il ne reste qu'une masse albuminoïde et amorphe. Le peu de protoplasme qui persiste dans les cellules envahies forme une sorte de réticulum dans lequel les sphérules sont englobées (Pl. XXVIII, Fig. 7). Le noyau s'hypertrophie, mais le nucléole reste petit au centre du nucléoplasme finement granuleux. A mesure que la Bactérie est digérée, le noyau s'altère de plus en plus en laissant des traces de nucléoplasme certainement sans aucune fonction.

Ce qui est intéressant à noter dans les tubercules d'*Ononis repens*, c'est l'absence presque totale d'amidon dans les cellules intermédiaires et dans celles de l'écorce où tout se passe comme si ces grains de réserve étaient remplacés par une quantité de précipitations. La forme de ces dernières est très variable, mais le plus souvent elles sont arrondies avec des taches plus claires à l'intérieur, ce qui leur donne une structure alvéolaire (Pl. XXVIII, Fig. 6). M. P.-A. Dangeard a étudié également l'*Ononis repens* et a vu quelques formes ramifiées de la Bactérie, mais il ajoute que « *l'évolution la plus ordinaire de* (*ces Bactéries*) *est celle qui donne naissance à des sphérules serrées les unes contre les autres, entourant la grande vacuole* ». A part l'absence des formes ramifiées, notre description correspond à ce qu'a observé ce savant dans cette espèce.

Ononis viscosa L. (1).

Les tubercules de forme très allongée, ont une couleur jaune sable. Fixation au Regaud.

Si l'on examine plus spécialement dans les coupes de ces tubercules la médulle, c'est-à-dire ce parenchyme occupé

1. Jardin des Plantes du Mus. d'Hist. nat. Paris, juin 1926.

par les Bactéries, on trouve des cellules hospitalières très hypertrophiées renfermant une quantité de gros grains d'amidon disposés pariétalement. Souvent les grains d'amidon sont si nombreux dans les cellules envahies que les Bactéries occupent seulement les travées protoplasmiques qui restent entre ces grains (Pl. XXVIII, Fig. 4). Dans chaque cellule spéciale nous trouvons une grande vacuole centrale ou deux à trois plus petites (Pl. XXVIII, Fig. 1, 2, 3 et 5). La grande vacuole centrale existe même dans les cellules hospitalières nouvellement infestées.

Le noyau des cellules à Bactéries est très hypertrophié; son nucléole également très volumineux est chromatique, possède souvent des lacunes très claires, qui indiquent une vacuolisation (Pl. XXVIII, Fig. 1 et 2). Ce phénomène s'aperçoit même dans des cellules spéciales assez jeunes. Le noyau occupe en général le centre de la cellule ou se trouve un peu déjeté de côté, mais en tous cas il confine toujours au vacuome (Pl. XXVIII, Fig. 2 et 3).

La Bactérie passe par les mêmes stades d'évolution que nous avons déjà décrits pour le microorganisme des tubercules des autres espèces d'*Ononis*. C'est d'abord un court bâtonnet qui s'allonge, grossit, devient piriforme, puis s'arrondit et prend la forme d'une sphérule. Cependant même dans la zone basilaire nous rencontrons beaucoup plus de Bactéries piriformes que de sphérules. Au premier abord il est facile de prendre toutes ces formes arrondies pour des sphérules, mais en observant bien on distingue leur léger allongement en forme de petites poires. L'utilisation de l'amidon et la destruction du noyau commencent avec la digestion du microorganisme par les cellules hospitalières. Les cellules intermédiaires sont bourrées de gros grains d'amidon.

Le système conducteur est représenté par des faisceaux collatéraux ordinaires à bois externe et à liber interne. Quelquefois les espaces intercellulaires renferment des Bactéries. Dans cet habitat les Bactéries conservent leur

forme initiale sans subir aucune évolution même dans la zone basilaire (Pl. XXVIII, Fig. 2). Les cellules spéciales des tubercules d'*Ononis viscosa* montrent une grande résistance vis-à-vis de la Bactérie.

Nous avons obtenu de très belles préparations de ces nodosités, dont la coloration remarquable ne peut être malheureusement ni décrite ni reproduite (Pl. XLIV).

Medicago arborea L. (1).

Les tubercules de forme allongée ont de 2 à 3 mm. de diamètre. Fixation au Regaud.

La médulle est souvent divisée en médulles secondaires. Les cellules spéciales sont très hypertrophiées et mélangées aux cellules intermédiaires, pleines de gros grains d'amidon. Mais il y a des tubercules où les cellules intermédiaires en petit nombre, contiennent un petit groupe de Bactéries situées dans les mailles protoplasmiques entre les grains d'amidon (Pl. XXIX, Fig. 4). Dans presque toutes les cellules hospitalières il y a une couche pariétale d'amidon et même deux ou trois (Pl. XXIX, Fig. 3). Il nous semble qu'il existe une relation entre les cellules spéciales à couche pariétale d'amidon et les cellules intermédiaires, c'est-à-dire que, lorsque nous avons affaire à un tubercule pauvre en cellules intermédiaires, nous rencontrons un nombre plus considérable de cellules spéciales à gros grains d'amidon, disposés en couche pariétale.

Immédiatement au-dessous des cellules du méristème en division, nous trouvons des cellules du même tissu incapables de se diviser ultérieurement car elles sont envahies par de fines ramifications du filament muqueux. Ce dernier mesure à peine 1,5 μ de diamètre et se colore lui-même faiblement par l'hématoxyline, tandis que les

1. Fréjus (Var), août 1927.

Bactéries qu'il contient sont très chromatiques et disposées en une seule file (Pl. XXIX, Fig. 1).

Dès la pénétration de la Bactérie le noyau subit une hypertrophie notable ainsi que son nucléole (Pl. XXIX, Fig. 1 et 2).

Dans les premières couches des cellules de la zone moyenne, nous trouvons des cellules spéciales, fortement hypertrophiées avec des couches pariétales d'amidon et des Bactéries. Ces cellules sont souvent vacuolisées, mais si la vacuole fait défaut, la Bactérie occupe toute la cellule (Pl. XXIX, Fig. 3). Dans cette même zone on peut voir les cellules intermédiaires bourrées de gros grains d'amidon et contenant quelques Bactéries (Pl. XXIX, Fig. 4).

L'hypertrophie des cellules spéciales de la zone basilaire atteint son maximum et les grains d'amidon sont en grande partie digérés, tandis que les Bactéries touchent à la membrane cellulaire. Le centre de ces cellules est occupé par une ou deux grandes vacuoles et leur noyau est très déformé ou complètement désorganisé (Pl. XXIX, Fig. 6). Dans les cellules à grande vacuole les Bactéries sont disposées radialement et constituent une couronne plus ou moins chromophile (Pl. XXIX, Fig. 5 et 6). Si l'on suit l'évolution de la Bactérie dans les tubercules de *Medicago arborea* à travers les différentes zones, on constate d'abord, que la forme initiale est un court bâtonnet d'à peu près 1 μ de longueur. Ce bâtonnet s'allonge et devient filamenteux, puis il grossit et prend la forme d'un gros bâtonnet cinq à six fois plus long que large, renflé à l'une de ses extrémités ou aux deux et mesurant jusqu'à 7 μ. Nous avons aperçu quelques formes ramifiées et un peu vacuolisées qui ne sont autre chose que des Bactéroïdes (Pl. XXIX, Fig. 7). Finalement la chromophilie de ces longues Bactéries diminue. Nous avons vu dans une même cellule envahie, des Bactéries fortement colorées et d'autres presque incolores (Pl. XXIX, Fig. 5). En tous

cas, nous n'avons pas assisté à une digestion complète du microorganisme par les cellules hospitalières. Sa disposition dans les cellules spéciales est très caractéristique. Dans les cellules à grande vacuole l'extrémité renflée de la Bactérie touche, en général, la vacuole (Pl. XXIX, Fig. 5 et 6) et dans les cellules à couches pariétales d'amidon, c'est le contraire, car l'extrémité renflée est tournée du côté de la membrane cellulaire, c'est-à-dire, vers les grains d'amidon (Pl. XXIX, Fig. 3). On a l'impression que dans les deux cas la Bactérie s'oriente du côté où il y a le plus d'espace libre.

Le noyau au gros nucléole, dont nous avons parlé à propos des cellules nouvellement infestées, a subi bien des déformations pendant l'évolution du parasite. Il devient très hypertrophié et très chromatique (Pl. XXIX, Fig. 2), puis sa résistance diminue et il finit par dégénérer complètement.

Nous avons souvent trouvé de petits tubercules d'une teinte foncée, déchirés et desséchés : ce sont des nodosités, dont les tissus n'ont pas résisté longtemps aux Bactéries. S'il y a une symbiose, elle existe entre la plante en général et le microorganisme, mais les cellules qui hébergent les Bactéries n'en profitent pas, elles sont simplement le théâtre de toutes ces réactions qui vont permettre à la plante de tirer profit de la présence de la Bactérie dans certains de ses tissus.

Les tubercules de *Medicago arborea* sont très riches en amidon. Nous en rencontrons pas seulement dans les cellules intermédiaires et les cellules de l'écorce, mais encore dans les cellules spéciales disposé en couches pariétales. Ces grains d'amidon sont plutôt simples et polyédriques ; ils affectent probablement cette dernière forme parce qu'ils sont comprimés à l'intérieur des cellules. Dans la zone basilaire, les grains d'amidon sont totalement digérés. En tous cas ces grains sont plus vite digérés dans les cellules spéciales.

Les cordons libéro-ligneux sont des faisceaux collatéraux, assez nombreux et disposés dans l'écorce du tubercule.

Il y a encore un fait qui mérite de retenir notre attention. Dans les cellules intermédiaires où nous trouvons quelques Bactéries entre les grains d'amidon, le noyau fait toujours défaut, comme si la place de ce dernier était occupée par le microorganisme (Pl. XXIX, Fig. 4). Le noyau a-t-il été détruit après la pénétration de la Bactérie ou se trouve-t-il tout simplement recouvert par le parasite ?

M. P.-A. Dangeard a étudié également les tubercules du genre *Medicago* représenté par les espèces : *Medicago sativa*, *L.*, *M. Lupulina* L. et *M. maculata*. Il y a beaucoup de ressemblance entre ce qu'il a trouvé dans les tubercules de ces espèces herbacées et ce que nous avons trouvé dans *Medicago arborea*, qui est une *Légumineuse* ligneuse. Ce savant constate que les nucléoles des cellules nouvellement infestées sont très gros. Nous avons insisté aussi sur le même fait. Il trouve également des couches pariétales d'amidon dans les cellules parasitées et de grandes vacuoles centrales. Il y a cependant quelques différences, par exemple : tandis que les Bactéries de *Medicagon sativa* L. sont complètement digérées, nous n'avons observé dans les tubercules de *M. arborea* aucune digestion du microorganisme par les cellules hospitalières. En tous cas l'évolution de la Bactérie au commencement est la même pour l'espèce herbacée et pour l'espèce ligneuse. M. Dangeard ajoute que les Bactéroïdes sont rares dans cette espèce, et nous même, nous n'avons vu que quelques-unes de ces formes ramifiées. Parmi les nombreux tubercules examinés dans cette espèce, il y en a quelques-uns où la Bactérie a évolué vers des formes moins allongées, mais plutôt arrondies. M. Dangeard a trouvé une pareille évolution du microorganisme dans les tubercules du *M. Lupulina* L.

Trifolium alpinum L. (1).

Chaque pied possédait quelques tubercules ovoïdes de 2 à 3 mm. Fixation sur place au Regaud. La médulle de ces nodosités contient des cellules spéciales très hypertrophiées, mélangées aux cellules intermédiaires, pleines d'amidon et beaucoup plus petites (Pl. XXIX, Fig. 10). Nous n'avons trouvé rien de particulier dans les couches externes du tubercule, c'est-à-dire dans les cellules du manteau, ni dans celles du voile. Les cellules spéciales sont, le plus souvent, bourrées de Bactéries et les vacuoles centrales sont rares ou manquent complètement ; elles possèdent, en outre, de gros grains d'amidon pariétaux (Pl. XXIX, Fig. 10). Le noyau augmente de volume dès la pénétration des Bactéries dans les cellules ; il renferme un à deux nucléoles très chromatiques. En employant la triple coloration de Flemming, le nucléole se colore en rose vif allant au rouge, le nucléoplasme se teignant en jaune claire comme les Bactéries en digestion, tandis que les Bactéries intactes, sont encore chromophiles et prennent le violet (Pl. XXVII, Fig. 4). La forme initiale du microorganisme est un court bâtonnet qui s'allonge beaucoup et mesure jusqu'à 5 à 6 µ. M. P.-A. Dangeard a étudié les tubercules de quelques espèces du genre *Trifolium*. Il a trouvé que les Bactéries s'allongent d'abord, pour devenir piriformes et évoluer finalement en sphérules. La Bactérie du *T. alpinum* commence au contraire à se vacuoliser, après son stade filamenteux et ne se transforme pas en sphérule. Ceci est vrai pour tous les tubercules de cette Légumineuse que nous avons examinés, mais nous pouvons admettre que, dans d'autres tubercules de la même plante, la Bactérie puisse y avoir une évolution différente et se transformer en sphérules. Comme nous l'avons dit plus haut, les formes filamenteuses de cette

1. Environs du lac Pavin (Auvergne), août 1926, 1.200 m. d'altitude.

Bactérie se vacuolisent, perdent leur chromophilie, mais ne sont pas digérées même dans les cellules spéciales de la zone basilaire du tubercule. Cette Bactérie filamenteuse n'a pas une forme régulière, elle est souvent recourbée, gonflée à l'une des extrémités, et au centre, etc. Nous avons aperçu quelques rares formes ramifiées. Ces nodosités sont très riches en amidon, les cellules intermédiaires et les cellules de l'écorce en sont pleines. Les grains sont de taille plus petite au centre des cellules, et plus volumineuse vers la périphérie (Pl. XXIX, Fig. 11). Dans l'écorce il y a de nombreux faisceaux collatéraux à bois externe et liber interne. Le filament muqueux que nous avons vu dans la zone antérieure où se fait l'infestation et même dans les cellules déjà pleines de Bactéries, a un diamètre de 1,5 μ à 2,5 μ (Pl. XXIX, Fig. 9).

Il nous semble bien que ces tubercules sont produits par la même Bactérie qui forme les nodosités des autres espèces du genre *Trifolium* bien que *T. alpinum* ait été recueilli à une altitude de 1.200 m. Donc nous devons supposer qu'aux différentes altitudes il y a dans la terre les mêmes germes, les mêmes microorganismes.

LOTEAE

Dorycnium hirsutum D. C. (1).

Les nodosités sont des sphérules réunies par 3-4 ensemble. Fixation au Regaud et au Flemming. Nous en avons examiné quelques-unes toutes petites de 0,5 mm. de diamètre et d'autres un peu plus grosses. Nous n'insistons pas en général sur la couleur des tubercules, elle est presque la même pour les nodosités des différentes espèces des Légumineuses, en outre il nous semble que la couleur est

1. Pépinière Vilmorin, Verrières.

en relation avec les conditions dans lesquelles poussent les racines de la plante. Dans un terrain suffisamment humide, les tubercules sont d'une couleur d'ivoire, c'est-à-dire très claire, par contre dans un endroit sec ils sont d'un brun foncé. Leur couleur dépend encore de leur âge et les jeunes sont plus clairs que ceux qui sont déjà partiellement détruits.

La médulle de ces tubercules est souvent divisée en médulles secondaires.

Les nombreux tubercules de *Dorycnium hirsutum*, que nous avons examinés, ont des aspects différents.

Un premier groupe de tubercules a les caractères suivants : médulle formée par des cellules spéciales très hypertrophiées et des cellules intermédiaires peu nombreuses, cellules spéciales possédant souvent une grande vacuole centrale ou deux-trois sur la même ligne, ou enfin sans aucune vacuole. Nous croyons qu'il faut citer à ce propos M. P.-A. Dangeard. Voici ce qu'il dit au sujet des vacuoles des cellules spéciales des tubercules du *Pisum sativum* L. : « *jusqu'ici les Bactéries s'étaient montrées sous la forme de bâtonnets ou de courts filaments qui en pullulant, envahissaient la cavité cellulaire jusqu'au noyau d'un pseudotissu dense, en faisant même souvent disparaître toute trace de vacuole* » (63 p. 47). Par la triple coloration certaines cellules spéciales se colorent en violet intense et il est très facile de distinguer nettement la forme des Bactéries qui prennent cette couleur. D'autres cellules spéciales se colorent en jaune foncé dans lesquelles on ne peut pas très bien distinguer l'aspect des Bactéries. On se rend compte que la Bactérie se trouve dans un état de digestion, mais il y a un point difficilement explicable. Dans cette masse plus ou moins colorée et divisée en petits amas sphériques nous ne pouvons pas distinguer la forme du microorganisme qui a été altérée. La présence fortuite de Bactéries très chromophiles dans ces amas nous aide à comprendre ce dont il s'agit. Les Bactéries sont réunies par

groupes et ainsi nous sommes conduits à admettre la solution suivante. Le contenu, presque incolore de certaines cellules spéciales qui prend des formes très variées, représente tout simplement de petits groupes de Bactéries en voie de digestion. Nous supposons que les Bactéries ont produit une sorte de sécrétion gélatineuse les réunissant par petits groupes et que la cellule hospitalière n'arrive



Fig. 19. — *Dorycnium hirsutum* DC. A. - Cellules spéciales ; dans certaines, les Bactéries sont réunies par petits groupes et se trouvent en grande partie digérées ; B. - Cellule spéciale très hypertrophiée, pleine de Bactéries en forme de courts bâtonnets.

pas à dissoudre toute cette sécrétion (Fig. 19, A). M. Dangeard parle du même phénomène pour les tubercules du *Pisum sativum* : ...« *enfin, il arrive que même sur des tubercules âgés, les bâtonnets conservent leur forme initiale dans toutes les cellules, dans ces conditions, toute la cellule parasitée est remplie d'une sorte de zooglée compacte ou bien encore, la cellule renferme un certain nombre des colonies plus ou moins indépendantes et arrondies, dans chacune des-*

quelles on arrive à distinguer les éléments bactériens constituants » (63 p. 48, Pl. XXIV).

Initialement la Bactérie est un court bâtonnet ne dépassant guère 1 μ de longueur, puis elle s'allonge et mesure déjà 1,5 à 2,5 μ. Plus tard le microorganisme peut devenir piriforme. Il nous semble que la digestion est plus précoce pour les Bactéries qui sont disposées en petits groupes et qu'elle commence dans la zone moyenne plus tôt que dans la zone basilaire où nous trouvons des cellules spéciales pleines de Bactéries très chromophiles. Les Bactéries réunies par petits amas se déforment beaucoup au moment de la digestion, se vacuolisent surtout et ressemblent même à des Bactéroïdes. Le noyau se désorganise aussi pendant la digestion du microorganisme, après avoir subi une hypertrophie et une déformation considérables.

Deuxième groupe de tubercules. On trouve dans la médulle : 1° des cellules spéciales très peu hypertrophiées, sans vacuole, à noyaux très déformés ou détruits et pleines de petites Bactéries chromatiques ; 2° des cellules intermédiaires nombreuses, mais petites, remplies de grains d'amidon simples ou composés, arrondis ou irréguliers (Fig. 20, B). Par la triple coloration de Flemming, précédée d'une fixation au Flemming, les grains d'amidon se colorent en violet intense. Les cellules de l'écorce sont aussi très riches en amidon.

Troisième groupe de tubercules. Les cellules spéciales sont irrégulières de forme et pleines de petits bâtonnets chromatiques ; les cellules intermédiaires sont vides (Fig. 20, A).

Quatrième groupe de tubercules. Leur médulle est constituée par de grandes cellules spéciales, remplies de Bactéries chromatiques en courts bâtonnets (Fig. 19, B). Les cellules intermédiaires, moins nombreuses, renferment quelques petits grains d'amidon. Nous ne voulons pas insister davantage sur l'aspect variable que présentent ces tuber-

cules appartenant à une même espèce, mais provenant de prélèvements et de pieds différents.

Les cytosomes sont assez abondants dans presque toutes les cellules du tubercule.

Les cordons libéro-ligneux sont des faisceaux collaté-

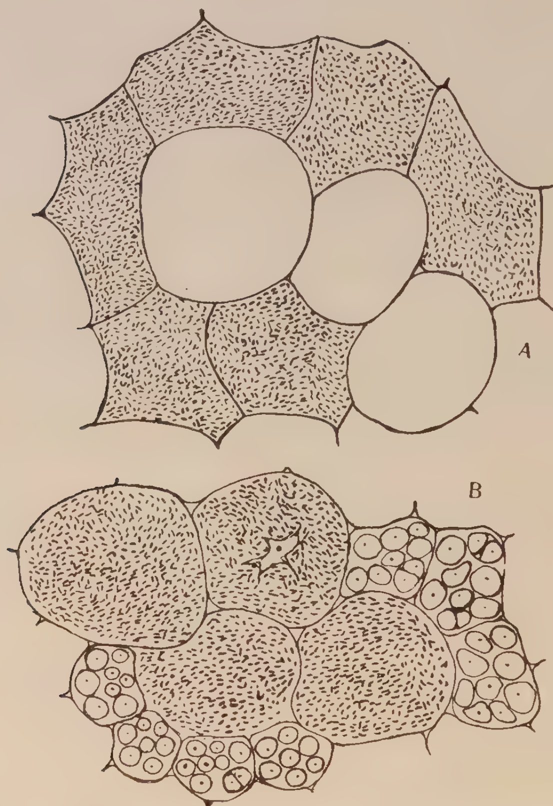


Fig. 20. — *Dorycnium hirsutum* D. C. A. - Cellules spéciales de forme bizarre et des cellules intermédiaires vides ; B. Cellules spéciales, entourée des petites cellules intermédiaires pleines de grains d'amidon.

raux à bois interne et liber externe, et présentent donc une exception à la règle générale qui veut que le bois soit toujours externe dans les faisceaux des tubercules et le liber interne. Nous avons aussi remarqué des faisceaux qui faisaient passage vers une stèle binaire.

Le filament muqueux, porteur de Bactéries, qui persiste longtemps dans beaucoup de cellules spéciales, est très fin ou renflé par place ou encore très ramifié ; il renferme des Bactéries bien visibles. Ajoutons pour finir que dans le manteau d'un tubercule nous avons observé la présence d'un nématode. Nous avons rencontré assez souvent ce parasite dans les tubercules de diverses légumineuses. Enfin quelques cellules du manteau sont pleines de Bactéries en courts bâtonnets.

GALEGEAE

INDIGOFERINAE

Indigofera artropurpurea Horn. (1).

Les radicelles de ce bel arbuste portaient à une faible profondeur quelques nodosités ovales et blanchâtres. Fixation au Bouin. Presque chaque tubercule contient plusieurs médulles secondaires. L'hypertrophie des cellules spéciales est très prononcée. Nos dessins représentent quelques-unes des moins hypertrophiées (Pl. XXX, Fig. 20). L'aspect des cellules envahies est assez particulier : elles possèdent souvent une grande vacuole centrale, ou quelque petites (Pl. XXX, Fig. 17) ou pas du tout. Dans le dernier cas, la masse bactérienne occupe toute la cellule, ou est fragmentée en lambeaux plus ou moins grands (Pl. XXX, Fig. 20).

La Bactérie est un bâtonnet qui s'allonge un peu et se gonfle légèrement à l'une de ses extrémités. Cependant dans certaines cellules nous avons observé des Bactéries beaucoup plus allongées et moins chromatiques à côté des éléments en courts bâtonnets, fortement colorés (Pl. XXX, Fig. 16). Il y a une telle différence dans ces deux Bacté-

1. Villa Thuret, Antibes (A.-M.), octobre 1930.

ries qu'il est difficile de dire si la forme allongée provient du court bâtonnet. La différence entre ces deux formes ne réside pas tant dans leur longueur que dans leur disposition et leur aspect général. Dans la zone basilaire du tubercule nous trouvons quelques cellules hospitalières qui ont fini par digérer la masse bactérienne et il persiste de cette dernière quelques bâtonnets (Pl. XXX, Fig. 19), parmi les résidus albuminoïdes. A partir de la zone moyenne, nous trouvons çà et là des cellules spéciales à membranes déchirées. Le noyau s'hypertrophie,se déforme et dégénère petit à petit. Nous ne le trouvons pas dans la plupart des cellules spéciales de la zone moyenne, et surtout de la zone basilaire.

Les tubercules d'*Indigofera artropurpurea* sont très riches en amidon. Les cellules du méristème sont remplies de petits plastes qui se transforment en amyloplastes. Les cellules intermédiaires et les cellules de l'écorce en sont bourrées dans toutes les zones, mais dans la zone antérieure, l'amidon est en formation, tandis qu'il commence à être digéré dans les deux autres zones. Nous avons remarqué que sa digestion précède celle des Bactéries (Pl. XXX, Fig. 18 et 22). Les grains d'amidon sont simples ou composés avec hile central.

Le filament muqueux est très fin. Les faisceaux libéro-ligneux sont des stèles binaires plus ou moins parfaites.

Nous trouvons une masse bactérienne de courts bâtonnets très chromatiques dans quelques cellules du manteau. Il semble que dans ces cellules le microorganisme pénètre directement et isolément et n'est pas apporté du dehors par les ramifications du filament muqueux (Pl. XXX, Fig. 21).

Indigofera macrostachya Willd (1).

Tubercules de forme allongée. Fixation au Regaud. Leur médulle est divisée en plusieurs médulles secondaires. Les cellules spéciales, fortement hypertrophiées, sont parmi les plus grandes que nous ayons observées. Elles sont parsemées de petites vacuoles ou n'en possèdent qu'une grande au centre (Pl. XXX, Fig. 3). Cependant quand les cellules sont complètement remplies de Bactéries la vacuole peut faire défaut. Dans la zone de la base ces cellules deviennent très déformées et leurs membranes sont en partie déchirées. Le noyau de chaque cellule envahie s'hypertrophie et se déforme parfois de la façon la plus extraordinaire (Pl. XXX, Fig. 5, 7, 11.) Le nucléole augmente aussi de taille. Il bourgeonne d'abord et se fragmente en plusieurs petits amas chromatiques. Lorsque la fine membrane nucléaire est détruite malgré sa grande résistance, le nucléole sort dans le protoplasme. Si parfois ce fait est purement mécanique, dans d'autres cas il y a un déchirement du noyau et le nucléole est poussé au dehors (Pl. XXX, Fig. 5). Nous avons aussi observé des noyaux où le nucléole est remplacé par une masse chromatique qui s'étale sur une grande partie du noyau (Pl. XXX, Fig. 10). A la place du nucléole expulsé par un effet mécanique ou simplement détruit demeurent des taches claires donnant l'impression de lacunes. La Bactérie assiégeant le noyau tend d'y pénétrer. Ce dernier réagit énergiquement, mais cède et commence à se désorganiser lorsque la virulence du microorganisme est trop grande. La triple coloration de Flemming par exemple, qui colore le noyau en jaune, et les Bactéries en violet très foncé, permet d'observer ces phénomènes, et de

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

voir les Bactéries s'amasser autour du noyau, y pénétrer quelquefois, surtout après la disparition du nucléole (Pl. XXX, Fig. 2, 3, 6, 7, 9, 12, 13). La résistance du nucléole est individuelle et à côté des noyaux qui se défendent bien, il y en a d'autres qui s'altèrent et se désorganisent rapidement. On peut objecter que la Bactérie ne se trouve peut-être seulement qu'à la surface de la membrane nucléaire et qu'elle ne pénètre pas dans le noyau. Mais d'après nos observations il semble que la Bactérie passe souvent à travers la membrane du noyau surtout lorsque celle-ci est très amincie par l'hypertrophie. Dans la zone basilaire il y a peu de cellules spéciales dont les noyaux aient échappé à une destruction complète et tout au plus en trouve-t-on contenant seulement des vestiges de noyau, ou un noyau dont la vitalité paraît très restreinte. La Bactérie mesure initialement à peine 0,7 μ, mais elle s'allonge ensuite un peu et atteint 1,5 μ. Cependant dans un tubercule de la même plante et de la même récolte, nous trouvons un allongement plus important (3,5 μ). Cette Bactérie montre une virulence encore plus grande que la petite forme, et nous n'avons pas observé de diminution de sa chromophilie même dans les cellules basilaires. Nous croyons que la Bactérie est la même dans les deux cas, mais que dans le tubercule où la Bactérie était beaucoup plus allongée, les conditions ont été plus favorables à son développement (Pl. XXX, Fig. 2). Cette Bactérie très virulente remplit les cellules, et conserve sa chromophilie tandis que le noyau périt après une forte résistance et que les membranes cellulaires s'amincissent et se déchirent. Nous avons vu cependant dans la zone basilaire quelques cellules hospitalièires dont le microorganisme avait subi une digestion plus ou moins marquée. C'est-à-dire que la Bactérie était moins chromatique et mélangée à des corpuscules incolores (Pl. XXX, Fig. 4). Ces petits corpuscules sphériques ou ovoïdes représentent un stade très avancé dans l'évolution de la Bactérie.

Les fins filaments d'infection n'ont qu'une seule file de Bactéries, rarement deux (Pl. XXX, Fig. 1). Les cellules de l'écorce et les cellules intermédiaires sont pleines de gros grains d'amidon, souvent composés, et complètement digérés dans la zone basilaire. Les cordons libéro-ligneux sont des stèles binaires. Nous avons observé une de ces stèles envahie par la Bactérie qui formait de petits amas dans toutes les cellules libériennes et même dans les cellules du bois.

PRORALIINAE

Amorpha fragrans Hort. (1)

Les fines radicelles portaient d'assez nombreux tubercules de 1 à 3-4 mm. de longueur. Fixation au Bouin. Dans ces tubercules les zones sont difficiles à délimiter, car la Bactérie ne change presque pas de taille, et ne se laisse pas détruire par les cellules hospitalières. La médulle forme souvent des médulles secondaires. Les cellules spéciales sont énormes à côté des cellules intermédiaires et la Bactérie les remplit entièrement en laissant émerger le noyau et quelquefois une vacuole centrale (Fig. 21). Dans les cellules envahies le volume du noyau est 3 à 4 fois plus grand que dans une cellule intacte. Malgré ces proportions il peut être arrondi, mais il est le plus souvent très déformé et ressemble à un croissant ou à une bande irrégulièrement boursouflée. Ce noyau hypertrophié a une structure réticulée au milieu de laquelle apparaît un nucléole très saillant. Ce dernier bourgeonne toujours plus ou moins ce qui fait que le noyau contient souvent plusieurs corpuscules noirs.

La Bactérie conserve sa forme initiale de court bâtonnet

1. Pépinière Vilmorin à Verrières, août 1926.

et s'allonge à peine un peu jusqu'à 1,5 μ. Nous n'avons observé aucune digestion du parasite par les cellules hospitalières, par contre ces dernières sont un peu déchirées dans la zone basilaire et dans la plupart d'entre elles le noyau est détruit. Donc la Bactérie des nodosités d'*Amor-*

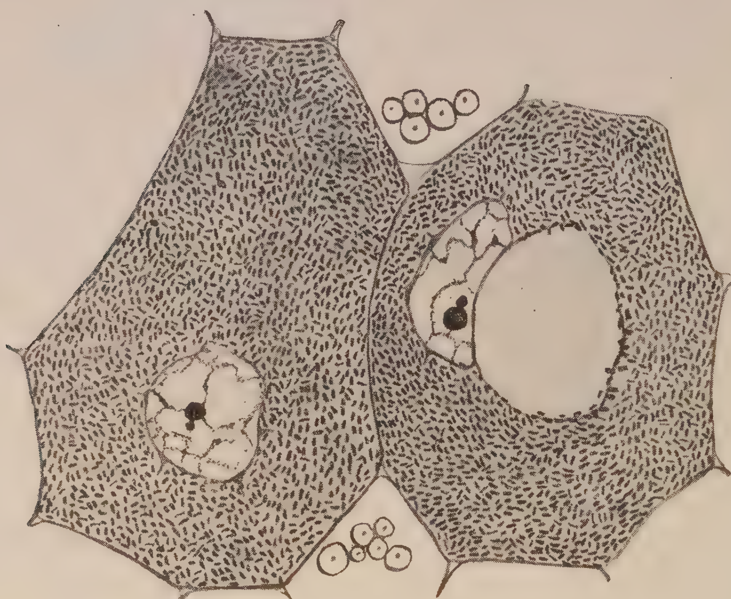


Fig. 21. — *Amorpha fragrans* Hort. Cellules spéciales très hypertrophiées, leurs noyaux ont une structure réticulée. Le nucléole montre des bourgeonnements. La Bactérie est un court bâtonnet.

pha fragrans montre une grande virulence et les cellules se défendent bien pendant un certain temps.

Les cellules intermédiaires sont beaucoup plus petites que les cellules spéciales. Elles possèdent quelques petits grains d'amidon. Les cellules de l'écorce sont plus riches en amidon que les cellules intermédiaires. Celles de l'endoderme sont remplies par des endochromidies du vacuome. Le système conducteur est représenté par des stèles binaires. Le filament muqueux est fin et noduleux.

TEPHROSIINAE

Wistaria chinensis D. C. var. Grandiflora (*W. Multijuga* Hort.) Sieb.

Les nodosités de cette glycine ont été récoltées au mois de juin 1926, après sa floraison ; elles étaient de différentes tailles et souvent groupées à plusieurs. Fixation au Regaud. Une première impression qui ressort de l'examen des coupes de ces tubercules, c'est que les membranes cellulaires ne résistent pas longtemps à l'action de la Bactérie. Même dans des tubercules relativement jeunes (car de petite taille), nous trouvons, à partir de la zone moyenne, des cellules spéciales à membranes déchirées. L'hypertrophie des cellules hospitalières n'est pas grande et elles sont mélangées à de nombreuses petites cellules intermédiaires.

La Bactérie conserve sa forme de court bâtonnet pendant toute son existence dans les tissus de la plante et mesure à peine un peu plus d'1 μ. Nous avons examiné cependant un tubercule où la Bactérie est un peu plus longue et mesure jusqu'à 2,5 μ. Ce même tubercule a des cellules spéciales plus hypertrophiées renfermant une à trois grandes vacuoles centrales. En observant une coupe longitudinale d'une de ces nodosités voilà l'aspect que présente la médulle : les cellules infestées de la zone antérieure sont pleines de Bactéries et presque sans vacuoles. On trouve surtout les vacuoles plus bas en descendant vers la zone basilaire où la vacuolisation est très marquée. Enfin à la base du tubercule, les membranes cellulaires sont complètement détruites et les Bactéries sont dispersées dans le protoplasme d'aspect nuageux et parsemé d'une fine poussière noire. La Bactérie n'est pas digérée, mais sa chromaticité diminue dans la zone basilaire malgré sa grande virulence (Pl. XXXI, Fig. 1).

Le noyau est à peine hypertrophié et son nucléole se

colore fortement en noir par l'hématoxyline. La place du noyau dans la cellule hospitalière n'est pas toujours la même et nous le trouvons tantôt au centre de celle-ci entouré de Bactéries, tantôt vers la périphérie où il est repoussé par ces microorganismes.

Dans un troisième tubercule nous avons trouvé des groupes de Bactéries filamenteuses. Nous ne pouvons pas assimiler ces Bactéries à un stade du développement du microorganisme symbiotique qui a provoqué la formation du tubercule et elles appartiennent certainement à une autre espèce qui a réussi à y pénétrer. Cette pénétration a été facilitée par la résorption des membranes cellulaires de la zone basilaire du tubercule (Pl. XXXI, Fig. 2).

Le filament muqueux doit être résorbé dès sa pénétration dans les tissus de l'hôte, car nous n'en retrouvons que quelques petits fragments. Dans presque toutes les cellules de la nodosité nous constatons la présence de minuscules cytosomes.

Dans les cellules intermédiaires et dans celles de l'écorce il y a des petits grains d'amidon digérés dans la zone basilaire. L'écorce renferme des cordons libéro-ligneux qui sont le siège d'une curieuse anomalie. Dans un même tubercule, nous trouvons en effet d'une part, de véritables stèles binaires, d'autre part des faisceaux collatéraux à bois interne et liber externe, c'est-à-dire le contraire de ce que nous rencontrons d'habitude. Nous avons déjà observé le même phénomène ainsi que M. P. A. Dangeard dans les tubercules de *Sarothamnus scoparius*. Mais les faisceaux collatéraux avaient une structure normale à bois externe et à liber interne.

Mentionnons l'existence de filaments mycéliens dans les cellules du manteau. Nous sommes ainsi encore en présence d'une espèce de Légumineuse dont les Bactéries ne subissent presque aucune modification, aussi après la prompte désorganisation des tissus tous ces microorganismes virulents retourneront à la terre en grande quantité.

ROBINIINAE

Robinia pseudoacacia L.

Le matériel provenant d'un jeune arbre a été fixé au Regaud, Les nodosités de *Robinia* ont souvent une forme très caractéristique. Elles se trouvent sur les radicelles très près du tronc de l'arbre, à une profondeur de quelques centimètres. Chaque tubercule a une sorte de pédicelle, qui le relie avec la racine ou la radicelle. Un premier renflement puis un deuxième, plus volumineux, suit le court pédicelle. C'est une minuscule coloquinte, dont les parties renflées sont rayées de stries très fines. Ces nodosités sont tantôt séparées, tantôt réunies en groupes mais elles conservent bien leur forme. Le diamètre de la partie la plus renflée d'un gros tubercule mesure quelques millimètres (Pl. XXXI, Fig. 13) et (Fig. 22 A du texte).

Certains tubercules ont des médulles secondaires. Les cellules spéciales sont très hypertrophiées et déformées ; elles atteignent 160 μ (Pl. XXXI, Fig. 5). Les jeunes cellules du sommet du tubercule qui se trouvent immédiatement après les cellules du méristème sont envahies par les branches du filament muqueux. Ces dernières sont faiblement colorées par l'hématoxyline ou par le violet de Gentiane, et on voit à l'intérieur les courts bâtonnets qui les remplissent et qui sont très chromatiques (Pl. XXXI, fig. 3). Plus bas les Bactéries quittent l'enveloppe muqueuse et s'installent à la périphérie de la cellule et dans les trabécules protoplasmiques autour du noyau. Dès la pénétration des microorganismes dans les jeunes cellules, celles-ci commencent à s'hypertrophier, ainsi dans la zone moyenne nous avons des cellules spéciales 3 à 4 fois plus volumineuses que les cellules intermédiaires. Dans la zone de la base, les cellules spéciales ont perdu presque entiè-

rement leurs membranes. Dans cette région les îlots bactériens parsemés de petites et de grandes cavités, ont un aspect nuageux. Les jeunes cellules infestées possèdent une vacuole centrale qui peut être encerclée ou refoulée vers la périphérie par suite du développement du microorganisme. Quelquefois la Bactérie remplit toute la cellule jusqu'au moment où l'hypertrophie de la cellule spéciale devient très grande et de nouveau plusieurs petites taches claires apparaissent, qui représentent peut-être de petites vacuoles masquées jusqu'alors par le microorganisme, à moins qu'il ne s'agisse simplement que de lacunes banales.

Les noyaux des cellules hospitalières des tubercules de *Robinia pseudoacacia* paraissent d'abord se défendre énergiquement, ils se déforment et leur nucléole qui grossit, bourgeonne et donne des granulations chromatiques. Petit à petit le noyau se désorganise et dans les cellules basilaires, dont les membranes sont déchirées nous n'en trouvons plus trace (Pl. XXXI, Fig. 4, 5, 7, 8, 9 et 10).

Les cellules intermédiaires, surtout dans la zone moyenne contiennent quelques grains d'amidon. On en trouve aussi dans les cellules de l'écorce, mais ici ce sont plutôt des grains composés. Nous avons très bien observé la transformation des plastes en amyloplastes grâce à une coloration au violet de gentiane. Dans les cellules du méristème les plastes sont petits, incolores et disposés autour du noyau. Un peu plus bas, ces plastes incolores prennent légèrement le violet, puis deviennent complètement violets par la présence de l'amidon déjà formé et enfin dans la base du tubercule se décolorent de nouveau en se réduisant à une plaque mince dont il ne reste qu'une faible partie non encore digéré.

La Bactérie mesure au début 1 μ, puis s'allonge un peu et dans certaines cellules peut atteindre jusqu'à 2,5 μ. Elle ne subit pour ainsi dire aucune déformation et se montre très virulente. Malgré cela vers la zone basilaire nous

remarquons que le microorganisme devient moins chromophile. Il est dispersé un peu partout et c'est ainsi que nous avons trouvé de petits groupes de Bactéries même dans les cellules du manteau.

Il est difficile de classer les faisceaux de ces tubercules

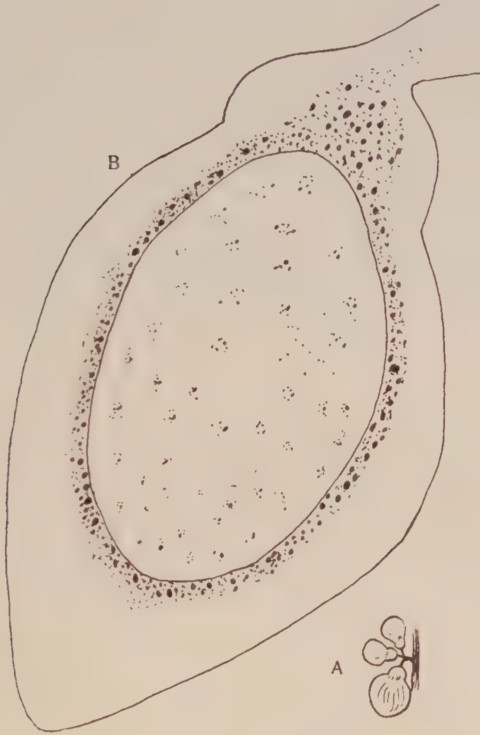


Fig. 22. — *Robinia pseudoacacia* L. A. Tubercules ; B. - Coupe longitudinale d'un tubercule qui montre la répartition de l'amidon dans la médulle et dans les cellules de l'écorce.

qui montrent souvent des passages d'une structure à l'autre. Lorsque les cellules du bois vont d'une extrémité à l'autre du faisceau en le traversant au milieu et en touchant au péricycle il s'agit bien d'une stèle binaire.

Examinant un petit tubercule de *Robinia pseudoacacia* nous l'avons trouvé à un stade avancé malgré sa petite

taille. Toutes ses cellules en dégénérescence, étaient presque vides. Les membranes des cellules spéciales et des cellules intermédiaires sont complètement détruites, et la médulle contient seulement des masses bactériennes parsemées de petites ou grandes lacunes. Il n'y a plus trace de noyau, mais en revanche des filaments mycéliens plus ou moins gros circulent à travers ces îlots bactériens. Les filaments qui se trouvent dans les cellules du manteau sont cloisonnés, uninucléés, et mesurent jusqu'à 6 μ de diamètre, tandis que ceux qui pénètrent dans la médulle, également cloisonnée, n'ont qu'un diamètre de 1,3 μ à 1,8 μ ; leurs noyaux ne sont pas très nets (Pl. XXXI, Fig. 6.)

La Bactérie garde sa forme de court bâtonnet et sa chromophilie.

Nous nous demandons si cette destruction du tubercule a été provoquée par le champignon ou si c'est la Bactérie qui en a été la cause facilitant en même temps la pénétration des filaments mycéliens ?

Ajoutons qu'on remarque à l'intérieur de ces masses bactériennes deux sortes de Bactéries : une forme prédominante, de petite taille, et une autre plutôt filamenteuse, atteignant 5 à 6 μ. Nous ne supposons pas que la forme filamenteuse provient de celle en courts bâtonnets, mais nous croyons plutôt que dans ce tubercule, en partie détruit, la Bactérie filamenteuse a pu s'introduire et se multiplier, n'ayant pas à traverser les membranes ni aucun obstacle.

Deuxième fixation des tubercules de *Robinia pseudo-acacia.*

Tubercules d'origine différente de ceux de la première fixation. Fixation au Bouin. L'examen de plusieurs tubercules montre une structure identique à celle des premières nodosités. Dans ce cas les cellules sont remplies de Bactéries et ne sont presque pas vacuolisées (Pl. XXXI, Fig. 11).

Une de ces nodosités a un aspect spécial. Ainsi vers la base de sa médulle on remarque une sorte de grande

cavité pleine de Bactéries dispersées avec des amas plus denses du microorganisme.

Troisième fixation (1). Fixation au Regaud. L'examen de ces nodosités qui sont très âgées, comme l'indique même une observation superficielle, montre une médulle formée par des cellules très déchirées mais en général l'aspect est comparable à celui des deux précédentes fixations. Il n'y a qu'une chose à ajouter, c'est la seconde infestation des cellules spéciales. On remarque en effet dans ces dernières, des îlots de Bactéries un peu plus courtes et fortement chromophiles à côté des Bactéries de la première infestation un peu moins chromophiles et un peu plus allongées (Pl. XXXI, Fig. 12).

La Bactérie de ces tubercules est très virulente et détruit les tissus hospitaliers en s'y multipliant très abondamment.

Robinia viscosa Vent.

Fixation au Flemming permettant une bonne étude du noyau.

Au sommet d'un jeune tubercule, c'est-à-dire dans le méristème nous pouvons voir plusieurs cellules dont les noyaux sont en division. Ce qui est surprenant c'est que le filament muqueux ait déjà envoyé des ramifications dans ces cellules de la base du méristème, il y a même des Bactéries libres dans le protoplasme de ces jeunes cellules et cependant les noyaux continuent à se diviser. Mais si les ramifications du filament muqueux, et les Bactéries elles-mêmes n'ont pas pu arrêter la division du noyau, dès leur arrivée dans la jeune cellule, elles ne tardent pas à le faire. On trouve tous les stades de la caryocinèse (prophases, métaphases, anaphases). Les chromosomes sont assez gros, mais difficiles à compter étant nombreux et serrés. Il semble qu'il y en a 16, mais nous n'insisterons

1. Royat (Puy-de-Dôme), août 1930.

pas sur ce chiffre. Ces chromosomes sont très chromatiques et le fuseau est très net. Dans la plupart des divisions au stade de la prophase, le spirème est discontinu (Pl. XXXI, Fig. 14).

Le filament muqueux est très fin et ne contient généralement qu'une seule file de Bactéries à son intérieur bien que parfois il soit plus gros et renflé à l'extrémité de ses ramifications. Les cellules spéciales sont très hypertrophiées. En somme, les caractères que nous avons décrits pour les tubercules de *R. pseudoacacia*, sont valables pour *R. viscosa*, avec quelques différences insignifiantes. Il y a des grains d'amidon même dans l'écorce de la racine porteur de tubercules.

Carmichaelia australis R. Br.

Les premiers tubercules de cette Légumineuse proviennent d'une petite plante cultivée dans les pépinières de Vilmorin. Le matériel a été récolté au mois de juin 1926 et fixé au Regaud. Entre temps Milovidov a publié une étude sur les tubercules de cette même plante en signalant une nouvelle espèce de Bactérie provoquant les nodosités de *Carmichaelia Australis* qu'il nommait : *Bacterium radicicola forma carmichaeliana.*

Pour mieux étudier ces tubercules, qui présentaient un grand intérêt pour nous, nous en avons récolté ultérieure ment à deux reprises. La deuxième récolte, fixée au Flemming, provenait aussi de Verrières, tandis que les nodosités de la troisième récolte, également fixée au Flemming, provenait d'un jeune pied élevé dans les serres du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris.

Nous avons fixé des tubercules de différentes tailles ; les plus petits avaient à peine 0,5 mm. et la plupart entre 2 à 4 mm. Ces nodosités étaient assez nombreuses et groupées sur les racines et les radicelles.

Coloration par l'hématoxyline, par la triple coloration de Flemming, etc.

Nous ne trouvons rien de spécial dans les cellules du manteau et du voile, c'est-à-dire dans les deux enveloppes de la médulle du tubercule, souvent divisée en médulles secondaires. Les cellules spéciales sont fortement hypertrophiées et d'un aspect identique aux cellules spéciales des nodosités de *Robinia*. Il y a à l'intérieur des cellules hospitalières plusieurs vacuoles, les unes petites, les autres plus volumineuses, dispersées un peu partout dans la masse bactérienne, mais en général presque toujours au contact du noyau (Pl. XXXII, Fig. 2). Dans d'autres cas il y a une seule vacuole centrale et le microorganisme est repoussé vers la périphérie de la cellule.

Les tubercules de *Carmichaelia Australis* sont très riches en amidon. Les cellules intermédiaires sont remplies de gros grains d'amidon, souvent composés. Les cellules de l'écorce en sont également bourrées, tandis que les cellules spéciales n'en possèdent qu'une couronne pariétale (Pl. XXXII, Fig. 4).

Le noyau commence à s'hypertrophier dès la pénétration du filament muqueux. Il augmente beaucoup de volume, ne conserve que peu de temps seulement sa forme arrondie, puis s'allonge ou prend des aspects amoeboïdes (Pl. XXXII, Fig. 2). Dans ces noyaux de forme bizarre, nous trouvons 2 à 3 gros nucléoles, fortement colorés par l'hématoxyline. Mais, ces mêmes noyaux après s'être hypertrophiés résistent non sans dommage aux microorganismes, s'altèrent petit à petit et disparaissent. Ainsi la cellule hospitalière est condamnée à périr car le noyau et le protoplasme ont été détruits pendant la lutte contre l'envahisseur.

Les cellules de l'endoderme, ainsi que certaines cellules de l'écorce, possèdent des vacuoles contenant de nombreuses endochromidies. Ces mêmes cellules contiennent également une grande quantité de sphérosomes et de mitosomes, c'est-à-dire des chondriosomes de forme sphérique ou allongée.

Les cordons libéro-ligneux sont des faisceaux collatéraux avec plusieurs cellules ligneuses du côté externe. Les cellules libériennes sont riches en cytosomes.

Le filament muqueux, porteur de Bactéries, s'est activement ramifié dans les cellules du jeune tubercule. Ces hyphoïdes présents dans la zone antérieure du tubercule se retrouvent même dans les cellules de la deuxième et troisième zone. Ceci s'explique par la grande abondance de ces filaments pénétrant en grande quantité dans les cellules hospitalières qui n'arrivent pas à liquéfier la substance muqueuse englobant la Bactérie. Dans certaines cellules, où cette réaction a été très faible, la plus grande partie du filament muqueux et de ses ramifications sont restés intacts et pleins de Bactéries. Il y a des cas encore plus intéressants : ainsi dans des cellules de la troisième zone, où la Bactérie est presque complètement digérée on voit arriver encore des filaments muqueux envahissant pour une seconde fois les cellules hospitalières qu'ils trouvent en grande partie déjà désorganisées, sans noyau et seulement avec les résidus de la digestion du premier envahisseur. Dans ce cas-là le filament muqueux circule dans les cellules hospitalières avec toutes ses ramifications, dont le contenu se colorent fortement par l'hématoxyline (Pl. XXXIII, Fig. 3). Le filament muqueux prend souvent des formes très bizarres, tantôt boursouflé en plusieurs endroits, tantôt envoyant des digitations dans toutes les directions. Après l'examen de la forme du filament muqueux examinons maintenant son contenu. Il est rempli de bâtonnets bactériens si courts qu'on peut facilement les confondre avec des microcoques. Une fois sorties du mucus les Bactéries commencent à se multiplier et à augmenter un peu de taille. Ensuite dans certains tubercules, commence la digestion du microorganisme, précédée de sa décoloration. Là comme toujours la digestion est accompagnée non seulement par une diminution de la chromophilie des Bac-

téries, mais aussi par leur déformation. Elles deviennent des bâtonnets irréguliers un peu recourbés et gonflés à une de leurs extrémités. En un mot la Bactérie se montre assez polymorphe (Pl. XXXII, Fig. 2 et 4). A la fin de la digestion, dans la zone basilaire du tubercule nous ne trouvons dans les cellules hospitalières qu'un résidu amorphe avec quelques Bactéries non digérées. Cependant, la digestion du microorganisme ne commence pas toujours par le stade des bâtonnets. Dans certains tubercules de *Carmichaelia Australis* la Bactérie qui occupe les cellules spéciales de la zone moyenne se renfle un peu à l'une de ses extrémités, devient piriforme, puis s'arrondit en sphérule qui prend faiblement l'hématoxyline. Le diamètre de ces sphérules varie entre 1 à 3 μ (Pl. XXXII, Fig. 1 et 5). Après la digestion des formes sphériques il ne reste qu'une masse albuminoïde et amorphe. Dans les cas de digestion de la Bactérie au stade de bâtonnet déformé, nous trouvons un aspect qui ressemble beaucoup au point de vue morphologique au *Rhizobacterium Myricae* (Pl. XXXII, Fig. 4). Dans le deuxième cas où la Bactérie est digérée après son évolution en sphérule, elle se rapproche un peu du parasite qui provoque l'apparition des tubercules d'*Alnus* (Pl. XXXII, Fig. 5). Parmi les cellules spéciales, dont le contenu bactérien est digéré, nous trouvons des espaces intercellulaires où la Bactérie est très chromophile et en bâtonnet.

Dans le dessin (Pl. XXVII, Fig. 5) nous avons représenté une cellule spéciale pleine de petites sphérules et avec une couche pariétale des grains d'amidon simples. Nous voyons que l'amidon n'a pas été utilisé par la plante en même temps que les produits albuminoïdes provenant de la digestion de la masse bactérienne. Mais nous savons comme le dit M. P.-A. Dangeard, que : « *il pourrait arriver que la quantité d'azote fixée par les Bactéries fût insuffisante pour utiliser tout l'amidon en digestion* ». Dans les tubercules de *Carmichaelia Australis* il reste certainement une

grande quantité d'amidon non utilisé. D'ailleurs les tubercules de cette plante sont très riches en amidon. Ce dernier sera rendu à la terre par la destruction des tubercules avec quelques Bactéries non encore digérées aussi. Dans un second dessin en couleur nous reproduisons quelques cellules de l'écorce pleines de grains d'amidon composés à différents stades de leurs digestion (Pl. XXVII, Fig. 6). Dans les cellules du manteau d'un tubercule nous rencontrons des hyphes mycéliens en mauvais état.

Pour en finir avec les tuberules de *Carmichaelia Australis* nous exposerons rapidement les idées générales de M. Milovidov sur leur envahisseur. Tout d'abord cet auteur nous dit que le microorganisme des tubercules de cette *Légumineuse* est différent de « *Bacterium radicicola* ». La différence réside d'après lui surtout dans la forme de cette Bactérie et dans certains phénomènes remarqués dans des cultures de cette Bactérie. Il dit, à plusieurs reprises, qu'il trouve un grand nombre de formes sphériques dans les filaments d'infestation, et à un autre endroit il complète en citant PRAZMOWSKI, NEMEC, DUESBERG et DANGEARD. Ces savants, s'exprime-t-il, ont fait seulement des suppositions qu'il y a des microcoques dans les filaments, tandis que lui a pu les voir très clairementet les photographier même.

*In den Infectionsfäden, Infectionsvesikeln, sowie auch in den Zooglöen, die hauptsächlich in dem Meristem vorkommen finden wir fast ausschliesslich Kokken in den übrigen Zellen grössere Kokken sowie auch Diplokokken... (*157, p. 58). *(« Les Bactéries sont exclusivement de forme ronde dans les filaments, les vésicules et les zooglées, dans les cellules elles sont de gros micrococques qu'on peut prendre pour des diplocoques »)... Plus loin il dit de nouveau à propos des Bactéries : « Dieselben sind gewöhnlich Kokkenartig oder eiförmig, in späteren Stadien aber sind sie stäbchenartig und oft etwas gekrümmt »* (157, p. 59). *(Les mêmes ressemblent ordinairement à des micrococques ou sont ovoïdes, mais plus*

tard deviennent des bâtonnets, souvent un peu recourbés.)

En examinant ses cultures il trouve cependant que la Bactérie est en forme de court bâtonnet : Gram positif. Mais il trouve également des micrococques et des formes ovoïdes, dispersées ou groupées en peties amas. Il hésite cependant à prendre ces formes sphériques pour des vrais micrococques car il fait la réflexion suivante :« *il est possible, que ces corps représentent les zoospores du microbe* », mais il en a trouvé de pareils dans les filaments muqueux et il n'ose pas aller plus loin dans ses conclusions. A une autre page, nous trouvons cette opinion : « *La Bactérie de Carmichaelia Australis, dans son jeune stade, a une forme de micrococque, mais après elle évolue ou conserve sa forme en devenant simplement plus grosse* ». Pour justifier sa nouvelle espèce de Bactérie il se sert du caractère négatif de la réaction de Gram pour les *Bacterium radicicola*. Cependant tous les savants ne sont pas de cette avis et Löhnis qu'il cite, trouve que les petites formes des Bactéries ont un Gram négatif, tandis que les grandes formes sont positives.

Harrison et Barlow considèrent *B. radicicola* comme une Bactérie positive au Gram d'après la méthode de Kisskalt. Mazé trouve que les deux formes proviennent des micrococques et peuvent se colorer l'une bien, l'autre moins bien, etc. Suivant d'autres auteurs comme Gonnermann qui trouve que le microbe des tubercules de Lupin est un *Micrococcus tuberigenus*, etc. Il cite également M. P.-A. Dangeard : « *Parfois même ces Bactéries sont presque arrondies, comme s'il s'agissait d'un micrococque* ». Ici nous voulons ajouter que M. P.-A. Dangeard n'a jamais considéré les Bactéries des *Légumineuses* comme de vrais micrococques et la phrase citée plus haut signifie tout simplement qu'on peut prendre facilement les courts bâtonnets pour des micrococques, et ce n'est que par l'étude de leur évolution que l'on peut se garder des erreurs.

M. Milovidov conclut à la fin que : « *dans les fila-*

ments muqueux et dans les cellules de Carmichaelia Australis se trouvent, sans contredit, des microcoques ». Cependant il se demande de nouveau : « *est-ce que ces microcoques sont indépendants ou ce sont seulement des stades de développement d'un microbe en bâtonnet, voilà la question* ».

On peut très bien créer une espèce nouvelle pour cette Bactérie en la rattachant toujours au genre Rhizobium que M. P.-A. Dangeard a adopté car ce savant même a trouvé 9 espèces de Bactéries pour les 20 espèces de Légumineuses appartenant à 6 familles différentes qu'il a étudiées. D'après nous, pour créer cette nouvelle espèce on doit se baser non sur le fait que la Bactérie ressemble à un moment de son évolution à un microcoque, mais sur son caractère très polymorphe et sur le fait que la digestion ne commence pas pour tous les éléments bactériens au même stade de leur évolution. Cette dernière survient quelquefois lorsque la Bactérie se trouve encore en forme de bâtonnet, dans d'autres cas ce qui arrive plus souvent, la digestion commence après l'évolution en sphérules.

Dans les tubercules que nous avons examinés il ne s'agit pas d'un microcoque, mais d'une Bactérie en forme de très courts bâtonnets au moment de la pénétration des filaments muqueux dans les jeunes cellules du tubercule en formation.

COLUTEINAE

Colutea arborescens L. (1)

Nous avons recueilli seulement quelques tubercules de petite taille. Fixation au Regaud.

Les cellules du manteau allongées et à membranes un peu plissées possèdent quelques petits plastes incolores autour du noyau, ainsi qu'un grand nombre de cytosomes dans la couche cytoplasmique pariétale. Ensuite viennent

1. Jardin des Plantes du Museum d'Hist. nat. Paris, juin 1926.

les cellules du voile, de forme également oblongue, mais à membranes plus épaisses. Ici les cytosomes sont encore plus abondants. L'écorce est formée par 4 à 5 assises de cellules et renferme des stèles binaires qui, souvent, ne sont pas parfaites.

En examinant les tubercules de *Colutea arborescens*, nous avons constaté une fois de plus que la grosseur des

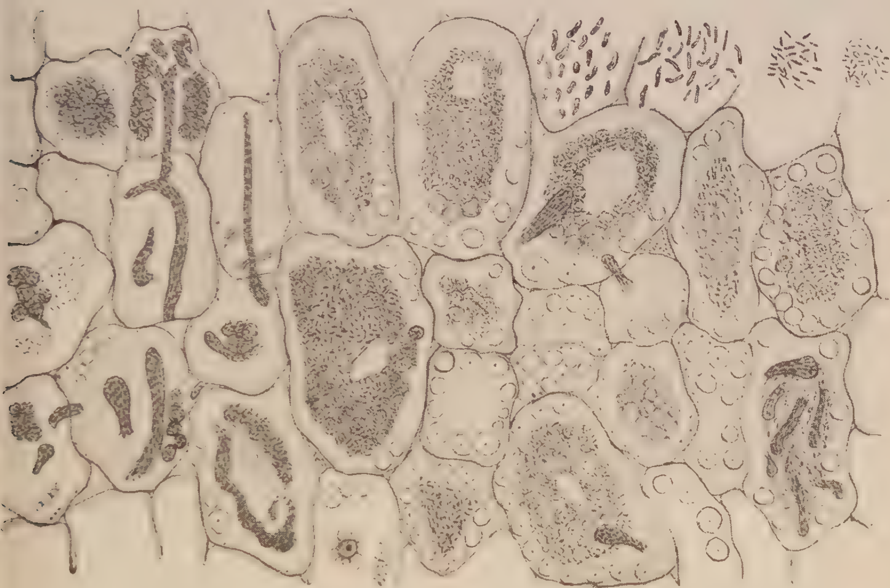


Fig. 23. — *Colutea arborescens* L. Une partie de médulle. Cellules spéciales et intermédiaires. Ramifications du filament muqueux. Différents stades de l'évolution des Bactéries.

tubercules ne permet pas de préjuger de leur état d'évolution. C'est ainsi que ces tubercules d'environ 0,5 mm. de diamètre étaient à des stades très avancés de leur développement. La médulle contient des cellules spéciales hypertrophiées et des cellules intermédiaires. Ces dernières sont gorgées d'amidon, et entre les grains le peu d'espace qui reste est parsemé de cytosomes.

La Bactérie est disposée de plusieurs façons dans les

cellules spéciales. Si nous examinons une cellule envahie de la zone moyenne, nous y trouvons une couche pariétale de gros grains d'amidon rapprochés l'un de l'autre, puis la masse bactérienne plus ou moins divisée par des vacuoles. Dans les cellules de la zone antérieure le microorganisme est disposé en petits amas globuleux. Plus tard ceux-ci laisseront échapper les Bactéries qu'ils contiennent. On a l'impression que la zooglée du filament muqueux n'est pas liquéfiée, dès son entrée, dans la cellule hospitalière. Ce retard peut s'expliquer en partie par une faible réaction de la part du noyau et du protoplasme. Il se produit tout d'abord une fragmentation du filament muqueux, et chaque partie qui en provient s'arrondit et conserve cet aspect jusqu'à ce que la substance muqueuse soit résorbée. Ces amas globuleux de Bactéries se retrouvent même dans la zone moyenne (Fig. 23 dans le texte). M. P.-A. Dangeard les a décrits dans les tubercules de *Pisum sativum* et de *Medicago sativa*. Les cellules les plus rapprochées du point végétatif sont envahies par d'innombrables ramifications du filament muqueux. Il faut remarquer que les Bactéries sont dispersées dans presque toutes les cellules du tubercule. Naturellement nous ne les rencontrons pas en aussi grande quantité que dans les cellules spéciales de la médulle. Il y a souvent des masses bactériennes dans les espaces intercellulaires. Le microorganisme s'y développe abondamment, ce qui fait que ces méats s'élargissent et peuvent être confondus, au premier abord, avec les cellules proprement dites.

L'amidon est très abondant dans les tubercules de cette Légumineuse. Les cellules intermédiaires en contiennent une grande quantité ainsi que celles de l'écorce. Dans les cellules spéciales les grains d'amidon sont disposés pariétalement en une seule couche. Dans la zone basilaire ces grains sont en digestion.

Le noyau des cellules hospitalières s'hypertrophie d'abord, puis dégénère peu à peu. Celui des cellules intermé-

diaires n'augmente pas de volume, mais se trouve déformé étant presque écrasé par les grains d'amidon. Les Bactéries sont initialement de courts bâtonnets, fins et très chromophiles, qui s'allongent et enfin deviennent presque incolores, en conservant toujours un petit corpuscule chromatique à l'une de leurs extrémités. Les formes allongées peuvent atteindre 3 μ. Nous avons observé dans certaines Bactéries un corpuscule réfringent au milieu de leur corps (Fig. 23). La vacuole occupe souvent le centre de la cellule spéciale et est entourée par les Bactéries, mais parfois elle peut affecter la forme d'un fin réseau, qui découpe la masse bactérienne. Nous ne savons au juste si ces lacunes ramifiées correspondent réellement à des stades de l'évolution du vacuome ou si ce n'est qu'une apparence due à ce que les Bactéries peuvent se trouver à la surface de la vacuole et en masquer les vrais contours. Il est possible enfin que ce réseau ne représente que des déchirures produites dans la masse bactérienne. Les vacuoles des cellules endodermiques contiennent des précipitations très chromophiles.

Les trois zones des tubercules de *Colutea arborescens* sont moins bien marquées par l'évolution du microorganisme que par l'état dans lequel se trouvent les grains d'amidon. La zone de la base qui a été la première infestée, montre les caractères suivants : cellules spéciales très grandes, plutôt allongées, grains d'amidon presque entièrement digérés, et Bactéries en bâtonnets allongés et recourbés, peu chromophiles. Le noyau est détruit ou est représenté par un amas chromatique. La zone moyenne est très riche en grains d'amidon et dans cette région le microorganisme est de taille plus petite. Enfin dans la zone antérieure les jeunes cellules envahies sont à peine hypertrophiées et les Bactéries en grande partie restent encore incluses dans les filaments muqueux. Ces derniers cheminent vers le sommet du tubercule pendant que les cellules du méristème continuent à se diviser jusqu'à

l'arrivée de la Bactérie. Les cytosomes sont très abondants. En observant les cellules des tubercules plus âgées, nous avons l'impression qu'elles n'ont pas offert une grande résistance à l'envahisseur comme l'indique la forte proportion des membranes cellulaires déchirées. Cependant la Bactérie ne semble pas très virulente et si elle n'est pas digérée, elle est devenu moins chromophile.

Colutea persica Boiss. (1)

Les radicelles portaient quelques rares tubercules de différentes grosseurs. Fixation au Regaud.Les cellules de la périphérie du tubercule qui constituent le manteau sont allongées, à membranes épaisses, avec une grande vacuole et quelques rares plastes et cytosomes. Les cellules de l'endoderme ont le même aspect, mais leurs membranes sont encore plus épaisses et le nombre des cytosomes plus grand. L'endoderme est suivi par quelques assises de l'écorce du tubercule dont les cellules sont riches en grains d'amidon et cytosomes. Les cordons libéro-ligneux sont des faisceaux collatéraux entourés d'un péricycle et d'un endoderme. Dans les cellules libériennes surtout, nous trouvons beaucoup de petits cytosomes. La médulle est constituée par de nombreuses cellules intermédiaires qui entourent les cellules spéciales très hypertrophiées et dépassant 150 μ (Fig. 24 et Fig. 25, D). Chacune possède une couche pariétale de grains d'amidon, une vacuole centrale, et une couronne de Bactéries séparant l'amidon et la vacuole. L'amidon est également abondant dans les cellules intermédiaires et dans celles de l'écorce. Les ramifications du filament muqueux ne sont pas seulement nombreuses dans la zone où commence l'infestation, mais dans toutes les cellules spéciales de la médulle. Ceci nous

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

montre que ces filaments sont assez résistants aux réactions de la cellule, ou qu'ils arrivent en si grande quantité que l'hôte ne peut pas les liquéfier. Des colorations au violet de gentiane, nous ont permis de bien voir ces filaments dont les Bactéries se teignent en violet intense. Nous

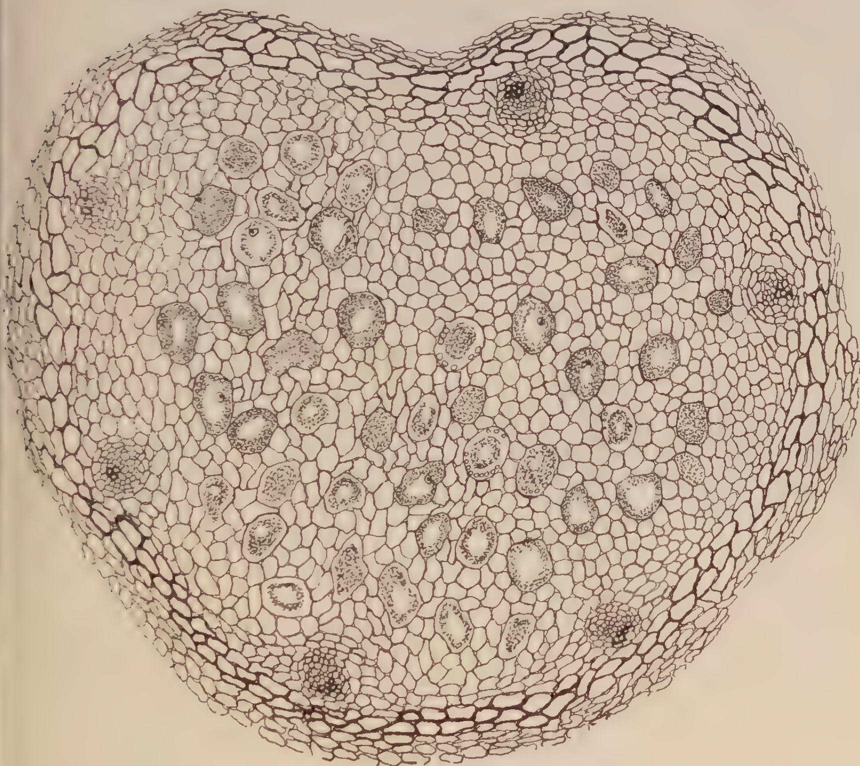


Fig. 24. — *Colutea persica* Boiss. Coupe transversale d'un tubercule. Les cellules spéciales sont peu nombreuses. Dans l'écorce du tubercule se trouvent des faisceaux collatéraux.

avons fait quelques dessins de ces préparations où l'on suit facilement ces hyphes muqueux qui cheminent d'une cellule à l'autre en laissant des renflements au niveau de la cloison mitoyenne de deux cellules (Fig. 25, B et C). Le noyau s'hypertrophie et devient irrégulier, prenant une

forme en croissant ou allongée. Cependant il finit par être complètement détruit dans la plupart des cellules spéciales de la zone basilaire. La forme initiale de la Bactérie

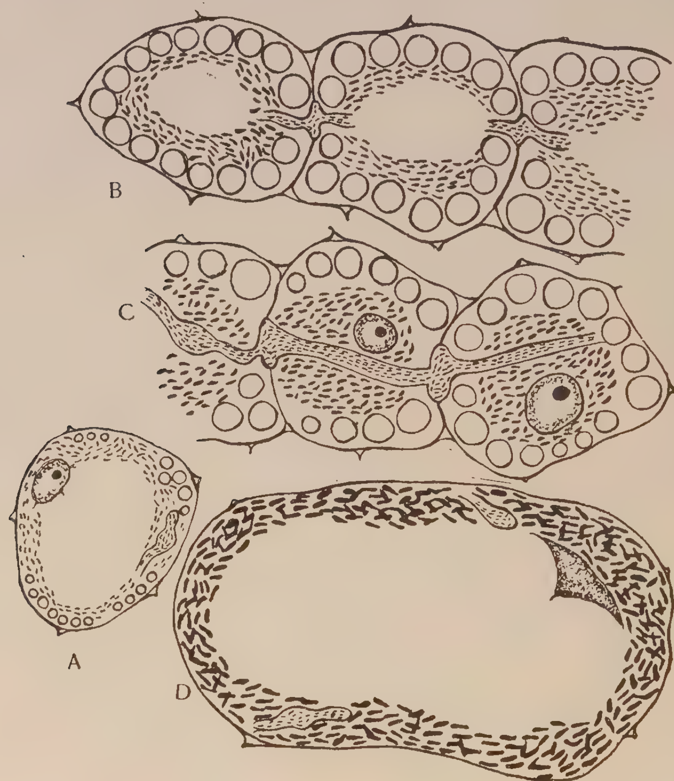


Fig. 25. — *Colutea persica* Boiss. A. - Jeune cellule spéciale ; B. - Cel. sp. avec vacuole centrale et où le filament muqueux persiste encore ; C. - Cel. sp. sans vacuole, un long filament muqueux les traverse, en écartant leurs membranes au passage ; D. - Cel. sp. fortement hypertrophiée.

est un court bâtonnet mesurant à peu près 0,5 à 0,6 μ. Puis ce microorganisme, en s'allongeant un peu et en se renflant devient cylindrique ou claviforme. C'est sous cet aspect qu'il commence à être digéré par la cellule hospitalière en perdant progressivement sa chromophilie. Dans les nodosités plus âgées la Bactérie est, en grande partie

digérée, et les membranes cellulaires sont également détruites. Donc les cellules hospitalières commencent elles aussi à se désagréger, soit sous l'influence des agents externes (grande humidité ou grande sécheresse), soit par leur propre épuisement après avoir eu à lutter longtemps contre le microorganisme (Pl. XXXIII). Les Bactéries qui n'ont pas été digérées reviennent à la terre où elles pourront de nouveau infester d'autres racines et poursuivre ainsi leur existence et leur évolution.

On trouve des filaments mycéliens dans les tissus du manteau et jusque dans ceux de l'écorce.

Swainsona coronillaefolia R. Br. (1)

Petites nodosités d'à peine 2 mm. de longueur, recueillies sur les racines d'une jeune plantule. Fixation au Regaud. Les coupes révèlent un aspect très particuler. Le manteau est réduit à deux ou trois couches de cellules et l'endoderme couvre un immense champ de grains d'amidon en grande partie digérés, entre lesquels on aperçoit les Bactéries dispersées. On peut dire que la médulle ne renferme que des cellules intermédiaires avec beaucoup d'amidon et quelques Bactéries, ou que des cellules spéciales avec peu de Bactéries et beaucoup d'amidon(Fig. 26, B). L'hypertrophie de ces cellules de la médulle n'est pas grande, tandis que celle du noyau est assez remarquable, sauf dans le cas où il est complètement écrasé par les grains d'amidon. Il n'y a presque pas de grandes vacuoles dans les cellules hospitalières, et il semble d'ailleurs impossible qu'elles puissent s'y développer faute de place. La médulle est quelquefois divisée en médulles secondaires. Les ramifications du filament muqueux sont assez larges, persistent longtemps comme dans l'espèce précédente (Fig. 26, A et C). Le microorganisme de ces nodosités est une petite

1. Serres de la Villa Thuret.

Bactérie cylindrique qu'on pourrait confondre avec un microcoque, si son évolution postérieure ne la transformait en Bactérie claviforme. Nous avons observé une diminution de la chromaticité de ces Bactéries dans la région basilaire, mais sans constater de digestion, ce qui ne veut

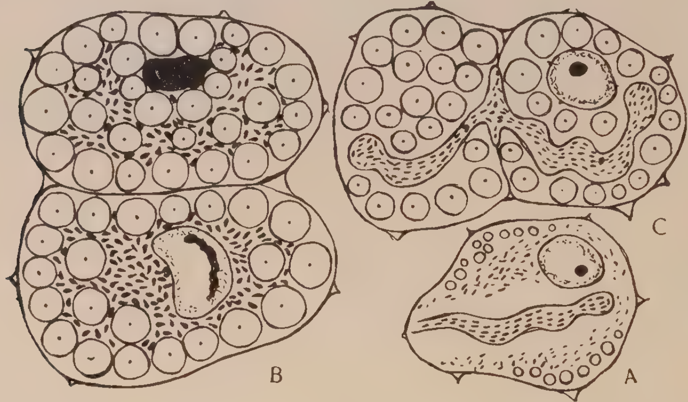


Fig. 26. — *Swainsona coronillaefolia* R. Br. A. - jeune cel. spéciale ; B. - Cel. sp. pleines de gros grains d'amidon et de Bactéries claviformes ; C. - cel. interméd. traversées par un filament muqueux.

pas dire que cette Bactérie ne soit pas digérée dans des tubercules plus âgés. La Bactérie mesure au commencement 0,6 μ à 0,7 μ, puis atteint 3 μ après son évolution. Les cordons libéro-ligneux sont de petits faisceaux collatéraux.

ASTRAGALINAE

Caragana Tragacanthoïdes Poir. (1)

Nombreux tubercules assez volumineux et légèrement allongés. Fixation au Flemming. Le manteau et le voile sont constitués par quelques assises de cellules n'ayant rien de spécial comparativement aux espèces déjà étudiées si ce n'est qu'elles sont très riches en cytosomes et endo-

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

chromidies. L'écorce renferme des cordons libéro-ligneux qui ressemblent à des stèles binaires, ou parfois à des faisceaux collatéraux.

La médulle est formée par des cellules spéciales très hypertrophiées et par des cellules intermédiaires contenant quelques grains d'amidon simples à hile central. L'amidon est plus abondant dans les cellules de l'écorce. Les

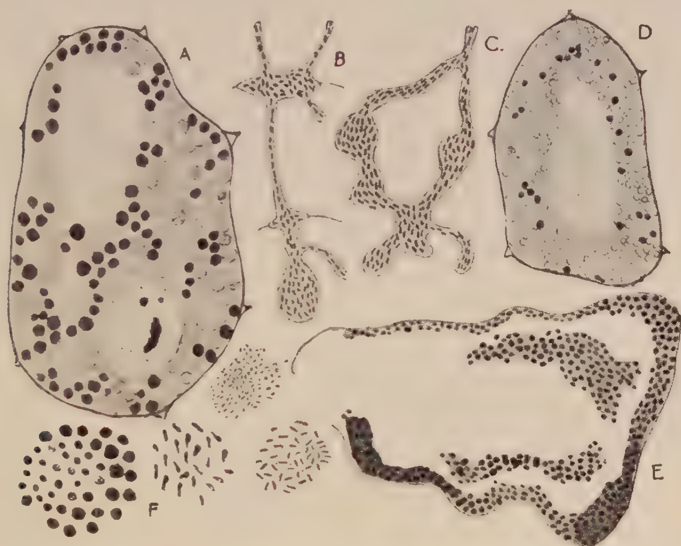


Fig. 27. — *Caragana Tragacanthoïdes* Poir. A. - Cel. sp. pleine de sphérules chromatiques et des sphérules vacuolisées ; B. et C. - Aspects du filament muqueux ; D. - Cel. sp. contenant de petites sphérules incolores ; E. - Cel. sp. déchirée, les petites sphérules sont très chromatiques ; F. — Différents stades de l'évolution des Bactéries.

ramifications du filament muqueux sont extrêmement fines, mais nous en avons vu parfois d'assez grosses (Fig. 27 B et C). Nous avons observé des filaments muqueux traversant en ligne droite plusieurs cellules et envoyant des ramifications dans tous les sens.

Les noyaux des cellules du méristème sont arrondies et leur nucléole est très chromatique ; mais dès l'arrivée du premier filament muqueux le noyau se contracte, devient

irrégulier, et ensuite commence à s'hypertrophier. Dans notre dessin (Pl. XXVII, Fig. 7) nous avons représenté une partie du tubercule où ce phénomène a lieu. Cette contraction et la déformation immédiatement successives à la pénétration du filament muqueux ne se produisent pas d'une façon aussi marquée dans d'autres tubercules appartenant à différentes espèces de *Légumineuses*. Dans la zone où le parasite et les grains d'amidon sont en état de digestion, l'amidon est solubilisé et imprègne le noyau. Ceci s'observe naturellement dans des préparations colorées au violet de gentiane. Les grains d'amidon transformés en simples plaquettes retiennent encore le violet, tandis que le noyau se teint seulement en violet pâle. M. P. A. Dangeard indique aussi que les noyaux imprégnés d'amidon solubilisé se colorent faiblement en bleu par la solution iodo-iodurée. Dans les cellules spéciales, où le parasite a pris une extension considérable, le noyau est très hypertrophié et très irrégulier. La chromatine nucléaire est dispersée à l'intérieur du noyau en petites granulations ou condensée en amas.

L'évolution de la Bactérie est très intéressante. Le bâtonnet de 0,5 μ à peine, s'allonge, se renfle beaucoup, et en dernier lieu devient une petite sphérule d'un diamètre croissant de 1,5 μ à 3 μ. Nous n'avons pas observé de formes ramifiées (Fig. 27, F).

Les cellules spéciales plus âgées contiennent une grande vacuole centrale, tandis qu'il y en a plusieurs petites dans les jeunes. Dans les cellules du manteau et de l'endoderme il y a beaucoup d'endochromidies sphériques, alors que ces dernières sont en amas irréguliers dans les cellules intermédiaires. Les endochromidies sphériques sont facilement mises en évidence par une simple coloration à l'hématoxyline, et celles des cellules intermédiaires ressortent mieux par une coloration au Magenta.

Les zones sont assez bien marquées (Fig. 28). Dans celle de la base l'amidon et la Bactérie sont digérées et les cel-

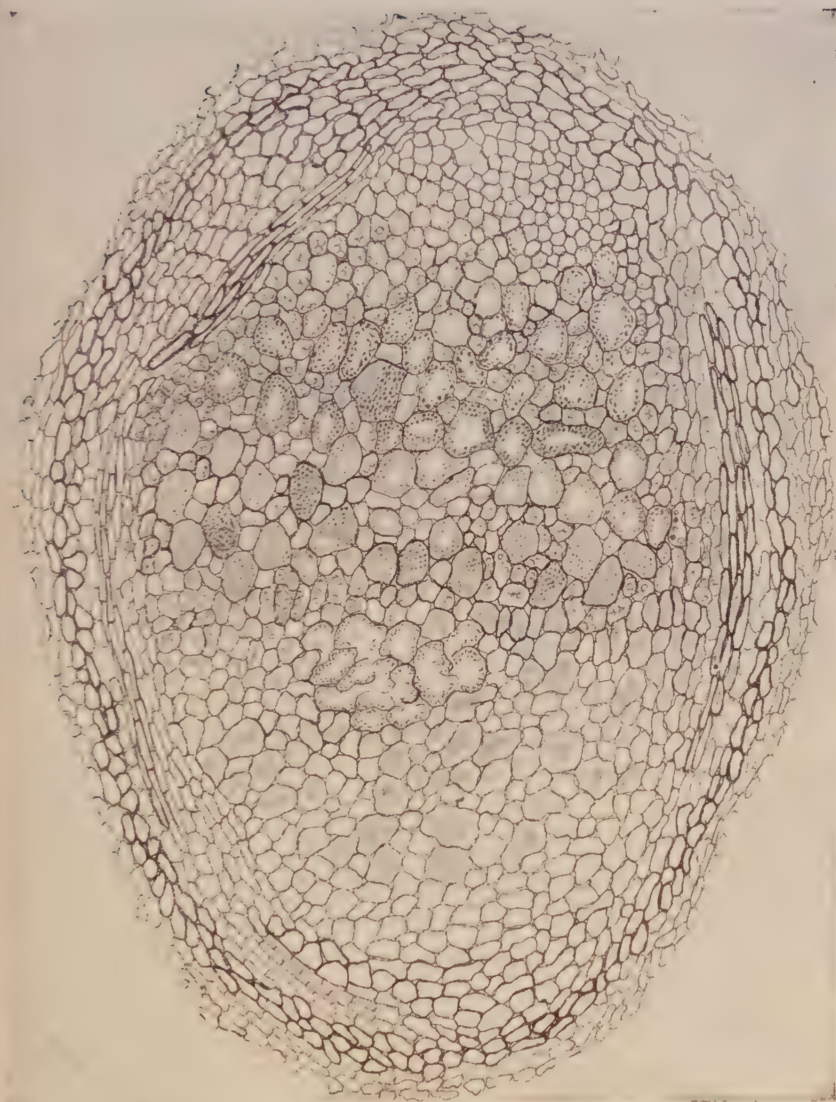


Fig. 28. — *Caragana Tragacanthoïdes* Poir. Coupe longitudinale d'un tubercule. On perçoit bien les 3 zones ainsi que le groupe des cellules un peu déchirées et pleines de petites sphérules très chromatiques.

lules spéciales ne contiennent qu'une substance albumìnoïde et incolore dans laquelle on peut encore rencontrer quelques sphérules et même quelques Bactéries claviformes et chromatiques (Pl. XXXII, Fig. 6).

Dans un tubercule nous avons trouvé à côté des cellules spéciales à Bactéries digérées, un groupe d'autres cellules à membranes un peu déchirées, mais contenant des Bactéries en forme sphérique très chromatique. Nous avons l'impression qu'il y a eu une deuxième invasion des filaments muqueux dans ces cellules âgées et que les petites sphérules n'ont pas encore terminé complètement leur évolution (Fig. 27, E). Il faut encore remarquer que la digestion des sphérules peut commencer souvent lorsqu'elles sont encore toutes petites (Fig. 27, D). En tous cas l'évolution du court bâtonnet en sphérules se fait rapidement. Chaque sphérule montre avant la digestion complète quelques corpuscules réfringents. S'agit-il de petites vacuoles ou de spores ? Nous sommes persuadée qu'il s'agit de petites vacuoles. Toutefois lorsque la membrane du micro-organisme est détruite par la digestion, ces corpuscules deviennent libres avant de disparaître complètement (Fig. 27, A).

La zone moyenne contient des cellules spéciales remplies de Bactéries piriformes, claviformes, cylindriques ou enfin en forme de petites sphères très chromatiques (Pl. XXXII, Fig. 7). Ces cellules peuvent quelquefois contenir de petits grains d'amidon adossés à la membrane. Enfin la zone antérieure qui reçoit le filament muqueux est constituée par de petites cellules polyédriques où les Bactéries commencent à se multiplier. La transformation des plastes dans les cellules du méristème en amyloplastes commence dès la pénétration de la Bactérie. Ajoutons encore que nous avons observé vers le sommet du tubercule et dans les tissus du manteau la présence de plusieurs espèces de Bactéries, s'i l'on en juge d'après leur forme. Ces microorganismes pénètrent directement du sol dans les cellules périphériques du manteau et pro-

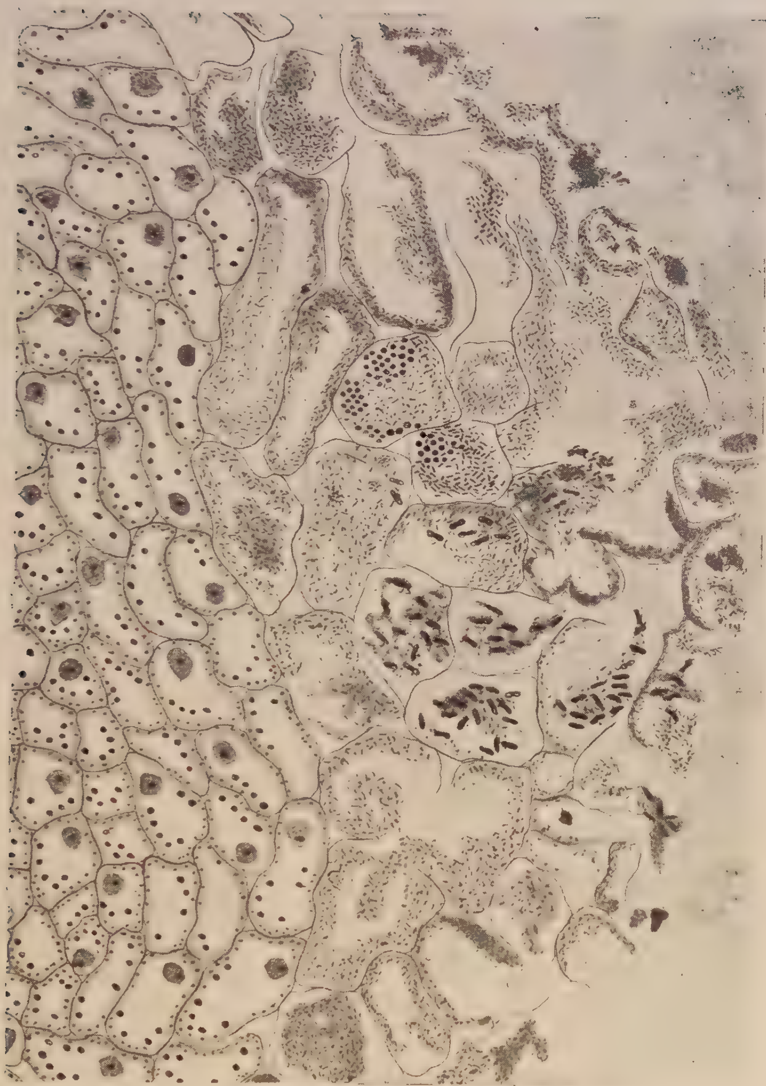


Fig. 29. — *Caragana Tragacanthoïdes* Poir. Coupe longitudinale du sommet d'un tubercule. Les premières assises du manteau sont envahies par toute une flore de Bactéries.

voquent une certaine déformation des cellules qui les hébergent (Fig. 29).

Astragalus hamosus L. (1)

Les tubercules peu nombreux provenaient de quelques jeunes plantules de 3-4 semaines. Ces nodosités avaient une jolie coloration légèrement rosée et sont souvent réunies de façon à rappeler par leur groupement l'aspect d'une fleur de Myosotis. Fixation au Regaud. Ici non plus la grosseur des tubercules n'est pas toujours en relation avec leur âge. De tous petits, d'à peine 0,5 mm. de diamètre sont déjà en réalité des tubercules âgés si l'on tient compte de l'évolution de leurs Bactéries. Le microorganisme qui envahit les racines d'*Astragalus* et provoque la tubérisation est digéré très rapidement par les cellules hospitalières, en passant par les stades de bâtonnets gonflés ou piriformes et de sphères. Dans une coupe longitudinale d'un tubercule, nous apercevons des zônes très nettement délimitées, se caractérisant chacune par la forme des cellules spéciales et par l'état du parasite et de l'amidon. Dans la zone antérieure, à côté des cellules du méristème, nous trouvons de jeunes cellules qui viennent d'être infestées, dont le noyau commence seulement à s'hypertrophier et où la Bactérie a la forme d'un très court bâtonnet (Pl. XXXIV, Fig. 1). Un peu plus loin, toujours dans la même zone, les cellules spéciales sont déjà remarquablement hypertrophiées ainsi que leurs noyaux, tandis que le micro-organisme est devenu un bâtonnet plus long et surtout renflé (Pl. XXXIV, Fig. 2). Les cellules intermédiaires contiennent quelques grains simples d'amidon et un noyau normal.

Vient ensuite la zone moyenne, caractérisée par des

1. Jardin des Plantes du Mus. d'Hist. nat. Paris, juin 1926.

cellules spéciales très hypertrophiées, à grandes vacuoles centrales, à noyaux déformés et où la Bactérie d'abord piriforme cède la place à des microorganismes en sphérules encore plus avancés dans leur évolution (Pl. XXXIV, Fig. 3 et 4). Les sphérules conservent pendant un certain temps leur chromophilie, puis, nous remarquons à côté des éléments bien colorés d'autres plus clairs ne se colorant presque pas. Il est à remarquer que parmi les grandes cellules parasitées, il y en a de toutes petites également parasitées et dont les Bactéries se trouvent au même stade d'évolution. Ce fait s'explique en partie, par la faible quantité de Bactéries qui s'y sont introduites et par leur évolution survenue si vite, que la Bactérie n'a pas pu se multiplier davantage et provoquer l'hypertrophie de la cellule hospitalière. Ces petites cellules spéciales sont remplies de Bactéries et sans vacuoles à moins que ces dernières ne soient très petites. Les cellules intermédiaires renferment quelques grains d'amidon de différentes tailles. A la base du tubercule se trouve la troisième zone formée par des cellules dont le contenu est en grande partie digéré et dont il ne reste qu'une masse albuminoïde, amorphe, constituée par le résidu du microorganisme. Les cellules intermédiaires ne contiennent que des restes d'amidon inutilisé. Pour en finir avec la description de la médulle proprement dite, il nous reste à dire quelques mots de l'écorce. Elle est constituée par un petit nombre d'assises cellulaires, avec plusieurs cordons libéro-ligneux d'une structure rappelant quelquefois des stèles binaires ou encore des faisceaux collatéraux. Les Bactéries ne se rencontrent généralement presque jamais dans les faisceaux, mais à l'aide de colorants électifs le microorganisme prend une teinte très spéciale et caractéristique et on peut ainsi distinguer parfois quelques sphérules du parasite à l'intérieur des faisceaux mêmes. L'hématoxyline combinée à la safranine et au carmin d'indigo colore la Bactérie en acajou et il est très facile

de la reconnaître ; on ne trouve d'ailleurs dans les faisceaux que quelques Bactéries isolées.

L'endoderme et le manteau sont formés de quelques couches cellulaires où circule un champignon siphomycète formant des sporanges. Nous donnerons une description plus complète de ce parasite dans un autre chapitre.

Astragalus Alopecuroïdes L. (1).

Tubercules lobés et réunis en petits groupes. Fixation au Regaud. La Bactérie a la même évolution que celle des tubercules d'*Astragalus hamosus.* Les cellules spéciales subissent une énorme hypertrophie et atteignent 230 μ ; elles réagissent selon le mode général à part quelques petites différences. Les tissus du méristème sont formés par de petites cellules polygonales à noyau central possédant de 1 à 3 nucléoles très chromophiles. Les cellules spéciales sont caractérisées par la présence de petites vacuoles dans la masse bactérienne (Pl. XXXIV, Fig. 5) mais on peut trouver de grandes vacuoles centrales comme chez *Astragalus hamosus.* Les cellules hospitalières contiennent aussi quelques grains d'amidon (Pl. XXXIV, Fig. 5) comme les cellules intermédiaires qui sont très petites et conservent leurs noyaux à l'état normal, même dans les parties de la médulle où le microorganisme est déjà en grande partie digéré. Le noyau des cellules spéciales est très déformé, très hypertrophié, tantôt allongé, tantôt en masse chromatique compacte au milieu des Bactéries (Pl. XXXIV, Fig. 6). Il arrive que le noyau se désagrège en abandonnant sa chromatine autour de la grande vacuole (Pl. XXXIV, Fig. 7).

Les zones sont bien marquées. On peut rencontrer dans certains tubercules des médulles secondaires. Dans l'écorce

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

il y a les cordons libéro-ligneux qui sont de véritables stèles binaires.

La Bactérie en court bâtonnet devient piriforme, puis sphérique et finit par être digérée par l'hôte. Souvent la digestion peut commencer avant le stade des sphérules. Nous avons vu des cellules spéciales pleines de Bactéries piriformes ou cylindriques, ne se colorant plus et en partie digérées. Les membranes des cellules spéciales ne résistent pas longtemps et nous les trouvons pour la plupart déchirées dans la zone basilaire. Les cellules du manteau sont plus ou moins vigoureuses. Elles conservent quelquefois leurs noyaux et possèdent un protoplasme réuni en couche pariétale et une grande vacuole centrale dont le contenu précipite souvent. Ce qui a retenu plus particulièrement notre attention dans ces tubercules c'est la présence d'un Ascomycète dont nous donnerons à part la description complète. L'Ascomycète en question que nous avons nommé *Ascorhiza Leguminosarum* a trouvé dans les nodosités d'*Astragatus alopecuroïdes* un milieu propice où il se développe et se reproduit par périthèces et chlamydospores.

Astragalus glycyphyllos L. (1).

Tubercules allongés et un peu ramifiés. Ces nodosités sont souvent réunies en rosettes irrégulières. Couleur brun foncé, et aspect un peu fané, ceci s'explique, en partie, par les mauvaises conditions de végétation (terrain sec). Fixation au Regaud.

Les zones sont souvent délimitées très nettement (Pl. XLIV). La zone antérieure a un aspect réticulé, et le parasite en forme de bâtonnet est installé dans les trabécules protoplasmiques. Les vacuoles et le protoplasme non encore envahi se dessinent comme des taches claires. Dans

1. Besse en Chandesse (Auvergne), août 1926.

la zone moyenne, toujours fortement colorée, la Bactérie est chromatique et remplit complètement chaque cellule (Pl. XXXIV, Fig. 10). On trouve seulement 2 à 3 petites vacuoles dans toute cette partie de la médulle. Les cellules spéciales sont petites, polyédriques et forment une sorte de pavage, elles conservent leur noyau, qui n'est presque pas déformé (Pl. XXXIV, Fig. 10). Pas de cellules intermédiaires. La troisième zone, dont les cellules ont été les premières envahies, est très claire. Le microorganisme est digéré et laisse quelques résidus. Les membranes cellulaires sont également détruites et le noyau persiste encore dans beaucoup de cellules. Il a une structure finement réticulée et sans nucléole (Pl. XXXIV, Fig. 12). A la fin il périt, mais bien après la destruction du microorganisme. Nous avons l'impression que c'est dans les tubercules d'*Astragalus glycyphyllos* que les noyaux des cellules hospitalières résistent le mieux aux réactions de la Bactérie. Dans des tubercules plus âgés la troisième zône s'est beaucoup agrandie. Il faut remarquer que dans la région des cellules spéciales à membranes déchirées et pleines de Bactéries en digestion que nous trouvons un grand nombre de filaments muqueux cheminant entre les espaces intercellulaires, se ramifiant et pénétrant même à l'intérieur de ces cellules. Ces filaments sont pleins de Bactéries très chromatiques formant par places des renflements plus ou moins grands (Pl. XXXIV, Fig. 11). La présence de ces filaments muqueux dans cette région est due, selon nous, à une infestation secondaire du vieux tubercule. Mais on pourrait admettre aussi que la dissolution de ce filament a été lente et difficile, ce qui a permis à un grand nombre de ramifications de rester intactes. Cette deuxième explication nous paraît bien moins admissible. On peut envisager une troisième interprétation. Le filament muqueux se ramifiant d'une manière excessive, les réactions de la cellule sont insuffisantes à le liquéfier. Initialement le microorganisme est un court

bâtonnet qui s'allonge, devient piriforme, puis sphérique (Pl. XXXIV, fig. 9). Dans cette espèce d'*Astragalus glycyphyllos* la digestion de la Bactérie peut survenir même après le stade de bâtonnet cylindrique. Le stade piriforme est généralement très court et les sphérules sont plus petites et moins régulières que celles des tubercules des autres espèces d'Astragalus.

L'amidon est abondant dans les cellules de l'écorce, et il est souvent digéré avant même la Bactérie. La médulle est fréquemment divisée en médulles secondaires. Les cordons libéro-ligneux sont des stèles binaires. Les cellules de l'endoderme contiennent des endochromidies volumineuses.

HEDYSAREAE

CORONILLINAE

Coronilla glauca L. (1).

Fixation au Regaud. Nodosités globuleuses de 2 mm. Les tissus sont en grande partie détruits, tandis que le parasite conserve sa virulence Les ramifications du filament muqueux sont très abondantes et bien visibles au sommet du tubercule.

Dans presque toutes les cellules il y a beaucoup d'amidon. Quelquefois l'amidon est si abondant que même dans les cellules spéciales la plus grande place est occupée par ses grains et que la Bactérie est dispersée entre ces derniers (Pl. XXXVI, Fig. 1). Lorsque les grains d'amidon sont disposés en couche pariétale dans les cellules spéciales, les Bactéries occupent le centre et il n'y a pas de vacuole visible (Pl. XXXVI, fig. 2). Mais quand ces grains font défaut, le microorganisme s'installe plus près de la mem-

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

brane cellulaire, et le centre de la cellule spéciale est occupé par une grande vacuole. A la périphérie de celle-ci se trouve le noyau qui est relié à la masse bactérienne par de fins trabécules protoplasmiques. A côté des cellules parasitées, les cellules intermédiaires regorgent d'amidon. Ce dernier n'est pas moins abondant dans les cellules de l'écorce.

Dans la zone basilaire la médulle n'est qu'une agglomération de Bactéries, avec quelques restes de membranes cellulaires et sans traces de noyau, à part quelques gros points chromatiques — vestiges de la chromatine nucléaire. La Bactérie est d'abord un court bâtonnet qui devient claviforme. A ce stade le microorganisme mesure 3 à 4 μ de longueur. Cependant, dans un tubercule, nous avons rencontré des Bactéries moins allongées, mais toujours un peu renflées et plutôt piriformes. Parmi ces Bactéries quelques-unes même étaient presque sphériques, mais cette forme d'évolution se rencontre rarement dans les tubercules de *Coronilla glauca*. S'il n'y a pas de digestion du microorganisme par la plante hospitalière, il y a du moins des formes arrondies où l'on trouve un commencement de vacuolisation. Les Bactéries sont dispersées et on en trouve même dans les cellules du manteau ; il est probable que c'est la prompte destruction des membranes cellulaires qui a facilité ce phénomène.

Le noyau des cellules spéciales est très hypertrophié. Nous avons observé souvent des prolongements amiboïdes, pleins de Bactéries, entourant comme des tentacules le noyau, mais restant à sa surface (Pl. XXXVI, Fig. 3). Une triple coloration à la safranine, violet gentiane et orange G., qui colore les Bactéries en violet rougeâtre et le noyau en jaune, nous a permis de voir que les Bactéries pénètrent quelquefois même à l'intérieur de celui-ci, et réussissent ainsi à vaincre la grande résistance du noyau. En effet nous avons remarqué dans un noyau la présence d'un filament renflé à une de ses extrémités

(Pl. XXXVI, Fig. 4). Donc, dans les tubercules de *Coronilla glauca*, la Bactérie peut pénétrer dans les noyaux des cellules parasitées, et franchir la membrane nucléaire par l'intermédiaire du filament muqueux. M. Milovidov parle de ce phénomène dans ses recherches sur les tubercules de *Carmichaelia Autraslis*.

Les nodosités que nous venons d'étudier sont peu résistantes. La Bactérie prend vite le dessus et les membranes des cellules hospitalières sont rapidement détruites. Nous relevons dans ces tubercules âgés la présence des filaments mycéliens et de quelques groupes de Bactéries filamenteuses.

Deuxième fixation au Flemming. Le matériel a été récolté à une époque différente de celle de la première fixation, c'est-à-dire au printemps, mais la provenance de la plante était la même. La Bactérie est quelquefois disposée par petits groupes. Ces nodosités, quoique de petite taille sont presque détruites intérieurement, tandisque la Bactérie conserve sa chromophilie et sa virulence. Le filament muqueux apparaît avec de gros renflements de place en place et de fines ramifications ; ces dernières ne contiennent qu'une file de Bactéries (Fig. 30, D et E).

Troisième fixation au liquide de Nawaschin. Elle nous a permis de remarquer un phénomène très intéressant, que nous avons rencontré dans beaucoup d'autres tubercules, c'est le bourgeonnement du nucléole. Plusieurs auteurs se sont déjà occupés de cette question : Digby en 1912, Sakamura en 1914, Tischler en 1921, Sugiura en 1925 et 1927 et Tadao Jimbo en 1927. Les recherches de ce dernier nous intéressent plus particulièrement car il a observé ce bourgeonnement du nucléole dans les tissus des tubercules de *Wistaria floribunda* D.C. D'après cet auteur, ce phénomène est identique au bourgeonnement des nucléoles qui se produit dans la plupart des divisions hétérotypiques des autres plantes. Il a trouvé que le nu-

cléole de presque toutes les cellules d'un tubercule, qu'elles soient parasitées ou non, y compris celles du méristème, avaient de 1 à 3 petits bourgeons à la périphérie. Il considère que lorsqu'il y a dans un noyau 2 à 3 nucléoles, l'un étant plus petit que l'autre, ils proviennent du bourgeonnement d'un seul ; il en conclut : que le bourgeonnement nucléolaire dans les cellules des tubercules indique ainsi que la division hétérotypique certaines conditions particulières des cellules. D'autre part ajoute-t-il, le bourgeonnement n'est pas actif bien qu'on le trouve fréquemment, car en général, le bourgeon formé reste attaché au nucléole même, sans s'accroître beaucoup. L'observation de ce phénomène nécessite de bonnes préparations. Le fixateur de Nawaschin et la coloration à l'Hématoxyline nous ont donné les meilleurs résultats. Dans les tubercules de *Coronilla glauca* le bourgeonnement du nucléole se fait surtout dans les cellules envahies, cependant, nous l'avons trouvé dans quelques cellules intermédiaires et même dans des cellules du méristème et de l'endoderme. Nous avons vu jusqu'à 4 petits bourgeons à la périphérie d'un nucléole (Pl. XXXVI, fig. 5 et 6). Nous sommes persuadés que le bourgeonnement du nucléole est un phénomène de dégénérescence nucléaire. En effet il se produit en général, d'après nos observations, dans les cellules des tubercules où le parasite prend le dessus, comme c'est le cas des tubercules de *Coronilla glauca*. Si nous n'avons pas décrit de pareils bourgeonnements dans les tubercules de *Wistaria*, où les tissus se trouvent également altérés par l'action du microorganisme et où Tadao Jimbo les indique, nous supposons qu'ils n'y font pas défaut, mais le fixateur de Regaud, n'étant pas un fixateur nucléaire, ne nous a pas permis de les observer. Comme nous l'avons dit déjà, la Bactérie n'est pas digérée dans ces tubercules, mais par contre l'amidon a été complètement utilisé par la plante. Au dernier stade de la digestion nous trouvons les restes de l'amidon sous forme de rubans déchirés remplis-

sant toutes les cellules de l'écorce (Pl. XXXVI, Fig. 7). Le filament muqueux est très ramifié et assure ainsi la contamination des cellules de la médulle (Fig. 30, C).

Coronilla iberica Bieb. (1).

Fixation au Regaud. Tubercules de formes variables, parfois très ramifiés (Fig. 30, A). D'ailleurs de même que la couleur, la ramification des tubercules dépend beaucoup du terrain où ils poussent. L'humidité favorise un développement exubérant des nodosités et détermine une ramification intense. Ce facteur externe n'est pas le seul qui agit sur le développement d'un tubercule, celui-ci dépendant aussi des tissus qui doivent recevoir la Bactérie et de la Bactérie elle-même. Enfin, la forme des tubercules varie souvent avec leur âge. Lorsqu'ils sont jeunes, leur couleur est claire et leur forme arrondie, tandis que les tubercules plus âgés ont une couleur foncée et des formes ramifiées et irrégulières. Sans nous arrêter aux cellules du manteau et de l'endoderme qui ont presque toujours la même structure dans tous les tubercules des différentes Légumineuses, nous passons à l'écorce où se trouvent les cordons libéro-ligneux d'une structure de stèles binaires. Nous arrivons ainsi à la médulle et pour l'examiner nous commencerons par le sommet du tubercule, là où le filament muqueux a déjà envoyé ses ramifications. Nous trouvons des cellules polyédriques, avec une couche de protoplasme pariétale, dans laquelle on peut remarquer de beaux cytosomes. Les noyaux commencent par s'hypertrophier tout en gardant leur forme sphérique. Donc, ils ne se déforment pas dès la pénétration du filament muqueux comme c'était le cas dans les tubercules de *Caragana tragacanthoïdes* .Les ramifications sont très fines avec une seule rangée de Bactéries à l'intérieur (Pl. XXXVII,

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, juin 1926.

Fig. 1). Un peu au-dessous de ces cellules, nous en trouvons d'autres, où les Bactéries ont formé déjà une couronne dans la couche pariétale du protoplasme. Les noyaux ont augmenté de volume ainsi que leurs nucléoles. Parmi les cellules déjà envahies il y en a d'autres plus petites restées indemnes d'infestation, ce sont les cellules intermédiaires (Pl. XXXVII, Fig. 2). Plus bas encore viennent des cellules presque entièrement remplies par les Bactéries et contenant quelques grains d'amidon dispersés dans la masse microbienne. Dans cette région les cellules intermédiaires possèdent quelques grains d'amidon et les ramifications du filament muqueux qui n'ont pas été liquéfiées persistent çà et là. Leur diamètre est un peu plus fort que celui des ramifications que nous avons trouvées vers le sommet du tubercule (Pl. XXXVII, Fig. 3). A la base du tubercule les cellules spéciales sont fortement hypertrophiées et la Bactérie a beaucoup évolué. Le noyau persiste, mais avec la digestion du microorganisme, sa vitalité diminue et il finit par se désorganiser complètement. La Bactérie d'abord simple bâtonnet, s'allonge, se ramifie, c'est le stade bactéroïde des auteurs. Les bactéroïdes ont une forme irrégulière en Y ou en V et sont souvent vacuolisés. Quelquefois la vacuolisation ainsi que la digestion commencent déjà au stade de simple bâtonnet. A la fin la Bactérie devient sphérique. De leur côté les sphérules augmentent de volume, se vacuolisent pour être en dernier lieu digérées par la plante. Leur diamètre varie de 1,5 μ à 3,5 μ. Nous remarquons que dans une même cellule toutes les Bactéries ne sont pas simultanément au même stade d'évolution. En outre dans certains tubercules,le microorganisme ne passe pas par le stade bactéroïde,le bâtonnet s'arrondit et forme une petite sphérule. Lorsque la Bactérie se vacuolise dès le stade de bâtonnet, les petites vacuoles sont disposées à son intérieur en forme de chaînettes, tandis que dans les petites sphérules, les minuscules vacuoles sont groupées en rosettes. Après la

digestion des sphérules, il ne reste d'elles qu'un simple disque dont on aperçoit à peine les contours. Mais lorsque la disgestion est complète, nous ne trouvons plus à l'intérieur des cellules hospitalières que quelques restes d'une substance amorphe et incolore (Pl. XXXVII, Fig. 4, 5, 6, 7 et 8).

Les grains d'amidon qui remplissent les cellules intermédiaires ainsi que les cellules de l'écorce sont aussi digérés, et cette digestion commence par leur partie centrale.

Les cordons libéro-ligneux sont des stèles binaires bien caractéristiques avec plusieurs cellules ligneuses au centre. Cependant leur structure peut être parfois très variable. Parmi les tubercules de *Coronilla iberica* que nous avons examinés il y en avait un, qui présentait un intérêt tout à fait particulier. Le tubercule en question mesurait à peine 1 mm. de diamètre et était envahi à la fois par la Bactérie, par les hyphes d'un champignon et par un nématode. Les coupes transversales faites dans ces tubercules nous montrent une structure et un aspect ne répondant pas à la structure des autres nodosités. Toutes les parties caractéristiques d'un tubercule : manteau, écorce ,endoderme, médulle, ne sont pas bien nettes ici (Pl. XXXVIII). La médulle, par exemple est représentée par de petites cellules polyédriques, de taille plus réduite que toutes les autres cellules du tubercule. En outre ces petites cellules hébergent des Bactéries, des hyphes mycéliens d'un champignon et les sporanges de ce dernier. Les Bactéries ne sont pas nombreuses, de telle sorte qu'on peut même les compter dans chaque cellule. Nous ne trouvons pas de cellules intermédiaires proprement dites, car la Bactérie est dispersée partout. L'écorce contient une quantité d'hyphes et lorsque nous arrivons à l'endoderme et au manteau nous remarquons plusieurs ilôts de Bactéries remplissant des groupes de cellules et des espaces intercellulaires. Certaines de ces cellules envahies augmentent de volume et ne montrent plus aucune trace de

vacuole. On peut dire que ces ilôts de Bactéries se présentent comme de petites médulles secondaires dans le manteau et l'endoderme du tubercule. Enfin, le troisième hôte est un nématode, qui s'est installé au centre du tubercule. Ces nématodes détruisent et disloquent une partie des cellules adjacentes. A la base du tubercule les Bactéries, que nous avons vu plus haut en bâtonnets chromatiques, ont évolué en petites sphérules vacuolisées et incolores (Pl. XXXVII, Fig. 9). Dans cette zone il existe quelques cellules intermédiaires. Les cellules hospitalières sont légèrement plus volumineuses que les cellules non infestées. Dans cette région l'aspect redevient tout à fait normal, et les filaments mycéliens sont beaucoup moins nombreux et ne pénètrent plus aussi profondément dans les tissus du tubercule. Nous avons remarqué, en outre, que le champignon résiste aux réactions de la cellule hospitalière. Quelques espaces intercellulaires sont pleins de Bactéries chromatiques. Dans le manteau et dans l'endoderme nous retrouvons toujours les îlots bactériens apparaissant comme des taches noires (coloration à l'hématoxyline), tandis que les autres cellules non envahies par la Bactérie sont remplies d'hyphes mycéliens.

Nous expliquons la formation et le développement de ce tubercule anormal de la manière suivante : le filament muqueux, porteur de Bactéries, qui a pénétré par un poil absorbant quelconque d'une jeune racine à l'intérieur de celle-ci a provoqué la formation du tubercule qui a commencé son développement normal. Ultérieurement le deuxième hôte, le champignon, fait son apparition dans les tissus du jeune tubercule, et pénètre jusque dans la médulle. Pour cette raison dans la partie antérieure du tubercule la médulle ne se différencie presque pas, le champignon étant déjà partout dans ses cellules où il empêche en quelque sorte le développement de la Bactérie et par conséquent l'hypertrophie des cellules spéciales. Le

nématode a pénétré comme le champignon après la formation du tubercule. Vers la base de ce dernier le champignon est parvenu beaucoup plus tard, aussi la médulle étant déjà constituée, elle n'a presque pas subi de déformation. En tout cas l'aspect anormal que présente la médulle dans la zone moyenne et dans la zone antérieure est évidemment dû au champignon. Dans l'intention de mieux étudier le champignon qui envahit les nodosités de *Coronilla iberica*, nous avons fait une deuxième fixation au Flemming. Le matériel provenait d'autres pieds

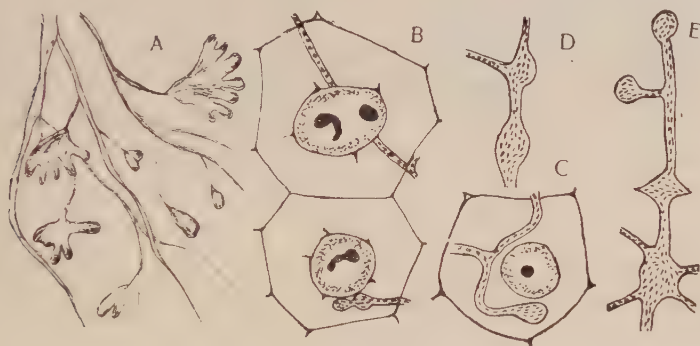


Fig. 30. — *Coronilla iberica.* A. - tubercules ; *C. scorpioïdes.* B. - Cel. dont le nucléole p. est déformé ; *C. glauca.* C., D. et E. - Aspects du filament muqueux.

cultivés au même endroit, malheureusement nous n'avons pu retrouver le champignon en question.

Il faut souligner le fait que l'amidon d'ordinaire très abondant dans les tubercules de *Coronilla iberica*, manque complètement dans le tubercule où nous avons trouvé les hyphes mycéliens. Il doit donc y avoir une relation entre le défaut d'amidon et la présence du champignon.

Les noyaux sont hypertrophiés dans les cellules spéciales des tubercules normaux et leurs nucléoles montrent souvent des bourgeonnements. Dans le tubercule envahi par le champignon, les cellules conservent rarement leurs

noyaux. L'altération immédiate de ces derniers nous indique que la présence des trois parasites condamne rapidement le tubercule à périr. Dans un chapitre spécial nous donnerons la description du champignon parasite qui est un *Pythium*.

Coronilla scorpioïdes (L.) Koch. (1).

La plupart des nodosités que nous avons ramassées sur les radicelles étaient de petite taille, mesurant à peu près 1 mm. de diamètre. Fixation au Regaud.

Dans les coupes nous trouvons le manteau qui constitue la première enveloppe du tubercule, puis vient l'endoderme formée par des cellules à parois épaisses,et l'écorce avec les cordons libéro-ligneux d'une structure binaire.Dans ces derniers la disparition de quelques cellules libériennes d'un côté ou de l'autre du bois, entraîne la transformation de la stèle binaire en faisceau collatéral à liber interne et bois externe ou le contraire liber externe et bois interne ce qui est d'ailleurs plus rare. La médulle contient une quantité de cellules spéciales mélangées à un nombre restreint de cellules intermédiaires. Les premières sont peu hypertrophiées et possèdent une vacuole centrale et une couronne de Bactéries entre la vacuole et la membrane cellulaire (Pl. XXXVI, Fig. 8). Quelquefois le vacuome n'est représenté que par quelques canaux qui sillonnent la masse bactérienne.

Dans ces tubercules nous ne trouvons pas beaucoup d'amidon. Les grains sont simples, arrondis, concentrés principalement dans les cellules de l'écorce et les cellules intermédiaires. Quelquefois il y a de ces grains même dans les cellules spéciales.

Les ramifications du filament muqueux sont extrêmement fines et les Bactéries y sont disposées un peu obli-

1. Jardin des Plantes, Mus. d'Hist. nat., juin 1926.

quement en une seule rangée à leur intérieur. Nous avons très bien pu observer ces filaments après une double coloration à la fuchsine acide et au vert de méthyle. Les filaments et la Bactérie prenaient une teinte bleu-vert, le microorganisme étant plus fortement coloré (Pl. XXXV). L'emploi combiné de ces deux colorants nous marque bien la limite entre la zone moyenne et la zone basilaire. Les Bactéries de cette dernière zone ont une évolution plus avancée et se colorent en rouge violacé, tandis que les Bactéries en courts bâtonnets de la zone antérieure et de la zone moyenne prennent une teinte où la couleur rouge violacée cède graduellement la place au vert de méthyle et tout à fait vers le sommet du tubercule le microorganisme est d'un beau bleu vert. La même coloration nous a permis de faire la constatation suivante : les noyaux dans toutes les zones et dans toutes les autres cellules, soit celles du méristème, des faisceaux, de l'écorce, de l'endoderme ou du manteau, sont teints par ces deux colorants en gris, tandis que la couleur du nucléole changeait suivant les zones. C'est ainsi que dans la partie basilaire de la médulle, où les noyaux sont gros et déformés, nous trouvons un petit nucléole coloré en rouge comme dans les cellules intermédiaires et les cellules du méristème. Alors que dans la partie antérieure de la médulle où le microorganisme vient seulement de pénétrer, le nucléole des noyaux est coloré en bleu vert pâle, mais toujours plus foncé que la masse grise-bleutée du nucléoplasme (Pl. XXXV). Les Bactéries sont-elles pour quelque chose dans cette différence de coloration du nucléole ? Apportent-elles des substances agissant immédiatement sur le nucléole, qui, après, petit à petit, reconstitue les matières altérées ? Il est probable que lors de la pénétration du microorganisme et pendant la résistance que le noyau oppose à ce dernier, le nucléole épuise certains éléments de sa chromatine justement électifs par rapport à la fuchsine acide. Plus tard, avec l'adaptation des cel-

lules hospitalières aux Bactéries, ou tout simplement avec la diminution de leurs réactions réciproques, le nucléole reconstitue cette partie de sa chromatine qu'il avait perdue et reprend la couleur rouge. En général le noyau des cellules des tubercules de *Coronilla scorpioïdes* ne subit pas une très grande hypertrophie ainsi que son nucléole, mais il faut remarquer que les nodosités que nous avons examinées étaient assez jeunes. Dans certains tubercules le noyau des cellules spéciales avait son nucléole très déformé, par le bourgeonnement ou par une sorte de fragmentation (Fig. 30, B).

Le noyau occupe tout d'abord le centre de la cellule spéciale mais dans les cellules à grandes vacuoles il est placé un peu à côté, appuyé à la couronne bactérienne. Enfin il disparaît dans beaucoup de cellules de la zone basilaire.

La fuchsine acide colore les cytosomes et nous voyons dans presque toutes les cellules de nombreux petits points rouges disposés contre la membrane cellulaire ou dispersés dans les trabécules protoplasmiques.

Les Bactéries sont d'abord de courts et fins bâtonnets, qui grossissent et s'allongent jusqu'à 2 μ. Elles ne se ramifient pas pour donner des formes bactéroides, mais s'arrondissent souvent et deviennent piriformes. Nous avons même observé, quelques rares sphérules. Si nous avions examiné des tubercules plus âgés, nous aurions sûrement trouvé que le microorganisme était finalement digéré par la plante, mais dans les jeunes nodosités que nous avions à notre disposition la digestion n'était pas encore survenue. Cependant nous avons aperçu des cellules spéciales dont la Bactérie ne se colorait pas d'une manière intense, les Bactéries étant devenues moins chromatiques, ce qui est un signe du commencement de la digestion.

L'examen des nodosités de ces trois espèces de *Coronilla* nous a montré que dans les tubercules de *C. scorpioides* et de *C. glauca* le microorganisme n'évolue pas en sphérules, tandis que chez *C. iberica* il passe par les stades

bactéroïde et sphérulaire pour être à la fin digéré par la plante.

Que tirer de ces constatations ? Les tubercules de ces trois Coronilles ont-ils été infestés par deux espèces distinctes de Bactéries ou plus simplement la différence qu'on remarque dans l'évolution de ces microorganismes serait-elle due au fait que les tubercules se sont développés dans des conditions différentes ? Il est difficile de répondre à ces questions sans entreprendre des recherches spéciales consacrées à la culture de ces Bactéries et à des expériences d'inoculations.

AESCHYNOMENINAE

Ormocarpum glabrum (1).

Sur ces racines nous avons trouvé une sorte de renflements, que nous avons fixés pour les examiner. Les coupes obtenues ne présentent pas la structure caractéristique d'un tubercule. C'étaient des racines normales, dont l'écorce contenait un peu de grains d'amidon et quelques filaments mycéliens. Il est probable que ces renflements étaient provoqués par ces derniers.

Ormocarpum glabrum est une *Légumineuse* ligneuse exotique et nous savons que souvent ces plantes ne peuvent produire des tubercules sur leurs racines lorsqu'elles sont transplantées dans nos pays. Mais il est aussi regrettable que nous n'ayons eu à notre disposition qu'un seul échantillon de cette plante, car l'exemple de *Bauhinia*, dont il nous a fallu dépoter plus de 20 pieds pour trouver 3 ou 4 nodosités, montre qu'il ne faut pas se hâter de conclure à l'absence de tubercules sur l'examen d'un individu isolé.

1. Serres du Mus. d'Hist. nat. Paris, juillet 1930.

STYLOSANTHINAE.

Arachis hypogaea L.

Nous devons le matériel qui nous a servi à l'étude des tubercules d'*Arachis hypogaea* à la bienveillance de M. Aug. Chevalier, Professeur du Muséum qui nous a donné quelques nodosités à l'état frais, et une grande quantité à l'état sec, provenant de son herbier. Le tout a été fixé au : Regaud, Flemming, Bouin et Nawaschin.

Les nombreuses coupes que nous avons examinées nous ont montré une structure très particulière et très intéressante. Nous avons dû reconnaître, dès le début de cette étude, que nous étions en présence d'une Bactérie un peu différente de celle qui provoque en général les nodosités des *Légumineuses.*

Les tubercules frais mesuraient à peine 1 mm. de diamètre, tandis que parmi ceux de l'herbier il y en avait de beaucoup plus grands. Ils sont de forme sphérique ou allongée, quelquefois même dichotomique.

Le manteau est formé de 3 à 4 assises de cellules allongées et aplaties. Puis vient l'endoderme ou voile du tubercule, constitué par des cellules à membranes épaisses contenant des précipités vacuolaires. Le centre est occupé par la médulle dont quelques couches externes forment l'écorce du tubercule. Les cellules de l'écorce dans les jeunes tubercules sont pleines de grain d'amidon, tandis que dans les tubercules plus âgés l'amidon a été utilisé par la plante et nous trouvons à l'intérieur de ces cellules seulement quelques endochromidies. Les cordons libéro-ligneux sont souvent des îlots assez volumineux. Ils ont la structure de stèles binaires, mais lorsque quelques cellules du bois font défaut, ces cordons libéro-ligneux ressemblent à des faisceaux concentriques. Ce phénomène est très fréquent dans les tubercules des Légumineuses, où le système conduc-

teur montre tous les passages d'une structure à l'autre. La médulle proprement dite est souvent traversée par 2-3 assises parenchymateuses qui la divisent en médulles secondaires. Mais en général elle a l'aspect d'une petite nappe de Bactéries sans aucune cellule intermédiaire. Les cellules hospitalières, petites, polyédriques ou un peu déformées sont remplies par le microorganisme et montrent rarement une petite vacuole centrale. Ni les cellules spéciales, ni même leurs noyaux simplement un peu déformés et écrasés ne présentent d'hypertrophie. Au stade initial la Bactérie est un bâtonnet extrêmement court et fin mesurant 0,4 μ de longueur. C'est la Bactérie la plus petite que nous avons observée jusqu'à ce jour dans les tubercules des *Légumineuses*. De plus son extrême finesse la rend difficilement visible. Nous n'avons pas observé de filaments muqueux, mais des files de Bactéries qui entourant le noyau, se dispersent et se multiplient dans les cellules hospitalières (Pl. XXXVI, Fig. 15 et 16). Le microorganisme grossit peu à peu, surtout à l'une de ses extrémités et prend la forme de massue (Pl. XXXVI, Fig. 17 et 18),puis le renflement terminal augmente et nous avons une sphérule avec un court prolongement qui petit à petit se résorbe. Cette forme sphérique de la Bactérie mesure au début 1 μ, puis 1,5 μ et quelquefois atteint 3 μ de diamètre (Pl. XXXVI, Fig. 19). Les coupes transversales dans les différentes régions d'un tubercule nous montrent des médulles contenant de petites sphérules de différentes tailles. Une coupe faite plus près du sommet du tubercule contiendra de petites sphérules de 1 μ de diamètre, alors qu'une autre faite vers la base du tubercule montrera des sphérules plus grosses, 2-3 μ. La digestion survient, et dans les cellules spéciales il ne reste plus que quelques sphérules entourées d'un peu de protoplasme cellulaire (Pl. XXXVI, Fig. 20 et 21). Tout a été utilisé par la plante. Avec la digestion, les noyaux dégénèrent aussi et nous ne trouvons plus que des cellules complétement vides. La

médulle n'est plus qu'une zone claire formée de cellules plus ou moins détruites à membranes déchirées qu'entourent des tissus plus vivants de l'écorce, de l'endoderme et du manteau. Nous avons l'impression que l'évolution du court et fin bâtonnet qu'est d'abord la Bactérie en une sphérule est très rapide. Il est à noter que la digestion de la Bactérie est tellement complète qu'elle se fait sans presque laisser de trace. Le microorganisme des tubercules d'*Arachis hypogaea* ressemble beaucoup à celui des tubercules de l'Aulne dont nous avons commencé également l'étude. En général l'évolution de ces Bactéries se fait simultanément dans toutes les cellules d'une région. Quelquefois cependant dans une même cellule, nous voyons vers la périphérie des sphérules plus grandes, puis vers le centre les sphérules sont plus petites, et tout à fait au milieu il reste encore quelques bâtonnets (Pl. XXXVI, Fig. 17). Nous avons remarqué que chaque sphérule possède un petit point chromatique en son centre, mais il est tellement minuscule qu'il est difficile de lui attribuer le nom de noyau, bien qu'il en occupe la position (Pl. XXXVI, Fig. 19).

Les cellules de l'écorce des jeunes tubercules sont littéralement remplies de grains d'amidon de différentes tailles. (Pl. XXXVI, Fig. 16). Ces réserves sont aussi employées par la plante principalement au moment de la maturation des graines. Pour cette raison on ne trouve plus d'amidon dans les tubercules âgés, les cellules de l'écorce ne contenant alors que des précipitations. Nous avons vu des grains d'amidon même dans le cylindre central d'une jeune racine.

Nous considérons que l'*Arachis hypogaea* profite largement du microorganisme qui vit dans ses racines et provoque la formation des nodosités.

DESMODIINAE

Desmodium Dillenii Darl. (1).

Nous avons recueilli quelques rares tubercules sur les radicelles proches de la racine principale. Ils étaient de petite taille et avaient une forme sphérique. Fixation au Regaud et au Bouin. Les jeunes tubercules montrent une médulle formée de cellules spéciales très peu hypertrophiées, pleines de Bactéries et ayant l'apparence d'une sorte de pavage, tandis que les nodosités plus âgées, renfermaient des cellules hospitalières très hypertrophiées avec des membranes en grande partie détruites. Les cellules intermédiaires sont très peu nombreuses et contiennent beaucoup d'amidon, leurs noyaux se trouvent comprimés par ces grains de réserve. Dans le protoplasme pariétal de ces cellules on distingue de beaux cytosomes et à côté d'eux, des corpuscules un peu plus gros, que nous considérons comme des précipitations chromatiques (Fig. 31). Les tubercules de *Desmodium Dillenii* sont très riches en amidon. Les cellules de l'écorce sont également remplies par ces grains et même les cellules du manteau en possèdent une quantité notable.

Dans les jeunes cellules hospitalières, le vacuome est représenté par 2 à 4 petites vacuoles, qui plus tard s'unissent et forment une grande vacuole centrale, dont nous ne retrouvons plus trace dans les cellules remplies complètement par les Bactéries.

Le noyau des cellules spéciales est fortement hypertrophié, tout en gardant sa forme sphérique. Il a une structure réticulée, et son nucléole montre des bourgeonnements très caractéristiques. Ce phénomène de dégénérescence du nucléole coïncide avec la destruction des membranes cel-

1. Pépinière de Vilmorin. Verrières, juin 1926.

lulaires et avec la virulence de la Bactérie. Le noyau finit par être complètement détruit et c'est en général le nucléole qui disparaît le premier, puis la membrane nucléaire et enfin le nucléoplasme.

La forme initiale de la Bactérie est un bâtonnet très fin, aussi fin que celui des tubercules d'*Arachis hypogaea*, mais peut-être un peu plus allongé. Ensuite le bâtonnet s'allonge et se gonfle un peu au milieu où nous apercevons souvent un point plus chromatique. Dans les cellules spé-

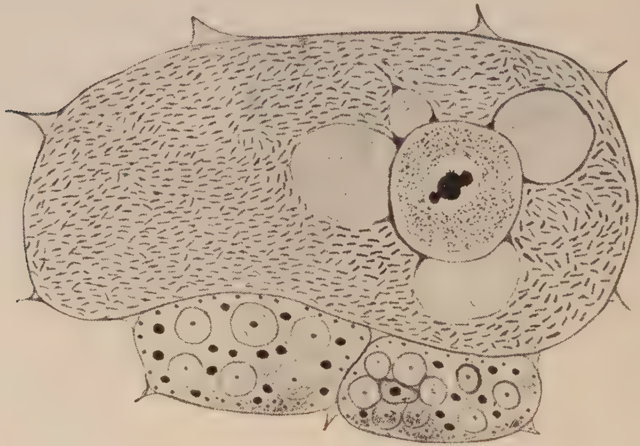


Fig. 31. — *Desmodium Dillenii* Darl. Cellule spéciale pleine de Bactéries. Le nucléole montre des bourgeonnements. A côté, deux cellules intermédiaires contenant des grains d'amidon, des cytosomes et des précipitations chromatiques.

ciales des tubercules âgés nous avons au premier abord l'impression que les Bactéries qui les remplissent sont encore plus petites que les éléments qui leur ont donné naissance. Mais ce n'est qu'une apparence. Un examen plus méticuleux permet de constater que ce que nous prenons au premier coup d'œil pour la Bactérie entière n'est que le point chromatique central, le reste du corps du microorganisme étant devenu presque incolore. Mais en dehors de cela nous n'avons pas observé une véritable altération de la Bactérie, en revanche les tissus du tuber-

cule sont les premiers ravagés. Dans la zone basilaire des tubercules, nous ne trouvons pas seulement les membranes des cellules spéciales déchirées, mais encore celles des cellules intermédiaires, dont les grains d'amidon sont en grande partie utilisés par la plante.

Nous n'avons pas pu voir ici le filament muqueux, mais simplement des files de Bactéries comme chez Arachis. Il est bien probable que ces files sont les véritables porteurs de Bactéries, car nous n'avons pas vu trace de filament muqueux proprement dit.

Les cordons libéro-ligneux sont des stèles binaires avec quelques déformations. Dans certains tubercules la médulle est divisée en médulles secondaires.

Lespedeza Sieboldii (1) Miq.

Tubercules nombreux. Fixation au Bouin.

Dans les coupes nous remarquons tout d'abord de gros grains d'amidon, souvent composés qui remplissent les cellules intermédiaires et celles de l'écorce. Les cellules spéciales sont très hypertrophiées et leurs membranes déchirées. Nous y trouvons un gros noyau réticulé, quelquefois une vacuole centrale et une quantité de Bactéries. Celles-ci semblent conserver leur forme initiale en court bâtonnet pendant presque tout le temps qu'elles passent dans les tissus du tubercule, leur dimension qui était primitivement de 0,7 μ ne dépasse pas 1,2 μ à la fin de l'évolution. Nous avons examiné des tubercules de grosseur et d'âge très différents, et dans chacun d'eux la Bactérie gardait sa forme de court et fin bâtonnet. Dans certaines cellules spéciales de tubercules âgés plusieurs petites vacuoles et des Bactéries ayant perdu de leur chromaticité donnent un aspect vaporeux à cette partie de la médulle. Il faut noter que les membranes cellulaires sont vite dé-

1. Pépinière Vilmorin, Verrières, août 1926.

truites et ceci se produit avant même l'utilisation complète de l'amidon (Pl. XXXII, Fig. 8).

Ici aussi, le nucléole présente des bourgeonnements. Nous soulignons que ce phénomène manifeste en général une dégénérescence du noyau, car nous le rencontrons toujours dans des cas, où le parasite a eu le dessus sur les cellules hospitalières.

Nous n'avons pas pu voir le filament muqueux. Il est probable qu'une résorption complète de son mucus se produit dès sa pénétration dans les cellules hospitalières ce qui en efface toutes traces.

Ajoutons que cette Bactérie par sa petite taille et par son comportement dans les cellules spéciales ressemble beaucoup à celles des tubercules de *Desmodium*.

DALBERGIEAE

PTEROCARPINAE

Dalbergia Sissoa Roxb. (1).

N'ayant pas trouvé de tubercules sur ses racines nous avons fixé quelques fragments de ces dernières. L'examen des coupes nous a montré qu'elles ne contenaient ni Bactéries, ni hyphes mycéliens.

PHASEOLEAE

CAJANINAE

Atylosia barbata W. et Arn. (2).

Tubercules globuleux et de petite taille, de 1 à 3 mm. de diamètre disposés isolément sur les radicelles, rarement

1. Serres du Mus. d'Hist. nat., juillet 1930.
2. Jardin des plantes, Mus. d'Hist. nat., juin 1926.

groupés par 2 ou 3. Leur couleur était blanchâtre. Fixation au REGAUD.

La Bactérie est un très court bâtonnet, dont la forme varie peu pendant sa vie dans les cellules hospitalières. Au début elle mesure 1 μ pour atteindre plus tard à peine 2,5 μ. Les cellules spéciales et leurs noyaux ne présentent pas d'hypertrophie sensible (Fig. 32, A et B). Dans les tubercules plus âgés, nous trouvons la plupart des membranes des cellules hospitalières déchirées.

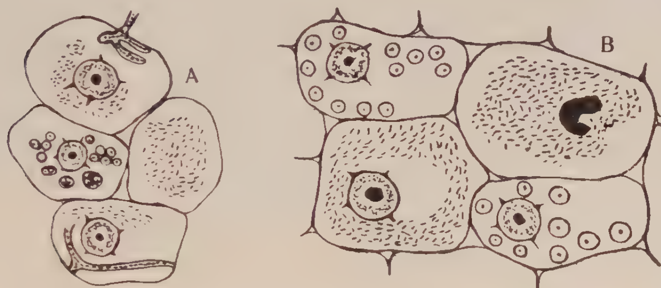


Fig. 32. — *Atylosia barbata* Wet. et Arn. A. et B. - quelques cellules spéciales et intermédiaires.

Les cordons libéro-ligneux sont des stèles binaires avec des passages à la structure des faisceaux concentriques.

Les tubercules d'*Atylosia barbata*, ne sont pas riches en amidon ni en précipitations chromatiques. Nous avons remarqué que le parasite ne s'installait pas d'une façon caractéristique dans les cellules : il occupe tantôt le centre, tantôt il recule vers la périphérie, ou bien n'envahit qu'une partie de celle-ci. Dans la zone basilaire à côté des noyaux très peu déformés par la présence du parasite, nous en voyons qui sont plus ou moins irrégulièrement hypertrophiés, d'autres enfin sont simplement représentés par une masse très chromatique, ou même disparaissent complètement.

Cassia mimosoïdes D. C.

Notre travail tirait à sa fin lorsque le professeur A. Chevalier qui revenait d'un voyage en Afrique Occidentale (Côte d'Ivoire) nous a obligeamment procuré des tubercules de cette *Caesalpiniée.* Ce savant nous a fait remarquer que les *Caesalpiniées*, même dans leurs pays d'origine ne possédaient pas toujours des tubercules sur leurs racines. C'est ainsi qu'on a retiré plus de vingt pieds de cet arbrisseau avant d'en trouver un qui ait des tubercules. Nous-même, nous avons cherché des tubercules à maintes reprises sur plusieurs exemplaires de Cassia cultivés, mais nous n'en avons jamais trouvé jusqu'ici. En tout cas la racine de *Cassia mimosoïdes* qui nous a été rapportée et qui mesurait 25 cm. de longueur, était couverte ainsi que ses radicelles, de plus d'une centaine de tubercules. Ces nodosités avaient une forme sphérique ou un peu allongée. Le matériel a été fixé dans quatre fixateurs différents.

Au microscope nous voyons que ces tubercules ressemblent beaucoup à ceux de certaines Papilionacées. Dans la médulle, les cellules intermédiaires sont rares, et de petite taille, parfois même elles font complètement défaut. Les cellules spéciales sont très hypertrophiées et nous en avons mesuré jusqu'à 215μ de longueur. Elles sont remplies de Bactéries et nous n'y apercevons aucune vacuole (Pl. XXXVI, Fig. 14). Le noyau se déforme, mais ne s'hypertrophie pas beaucoup même dans les cellules de très forte dimension. Il a une structure réticulée, son nucléole est petit et se désagrège progressivement par formation de bourgeonnement. La Bactérie mesure initialement jusqu'à 1 μ et pénètre dans les cellules par l'intermédiaire de fines zooglées (Pl. XXXVI, Fig. 10, 12 et 13). Nous disons zooglée, car on n'y voit pas cette couche un peu épaisse qui forme comme une sorte de membrane au filament mu-

queux. Ces files de Bactéries se remarquent même dans les cellules spéciales plus âgées, comme si leur matière gélatineuse n'avait pas été résorbée partout (Pl. XXXVI, Fig. 11). Nous avons eu à examiner de très bonnes préparations et nous n'avons pas trouvé trace de véritable filament muqueux, mais seulement ces fils ponctués de place en place. Pendant leur séjour dans les cellules hospitalières les éléments bactériens s'allongent un peu et deviennent d'une longueur de 2,3 μ. A ce stade les deux extrémités du bâtonnet se décolorent légèrement, mais le centre reste toujours très chromophile. Par la coloration à l'hématoxyline cette partie se colore en noir et nous donne l'impression que la Bactérie est bien plus petite qu'elle n'est en réalité (Pl. XXXVI, Fig. 14). Nous n'avons observé aucune digestion du microorganisme, il se montre d'une grande virulence, mais par contre les membranes des cellules spéciales de la zone basilaire sont souvent très déchirées. Nous trouvons de l'amidon en petite quantité et seulement dans les cellules de l'écorce. Cette dernière contient les faisceaux qui ont une structure binaire.

Culture du rhizobium

Nous avons fait quelques essais de cultures de Rhizobium des tubercules d'*Acacia dealbata*. Pour isoler cette Bactérie nous avons au préalable stérilisé les tubercules en les lavant tout d'abord bien à l'eau, ensuite les tremper pendant 3 à 4 minutes dans le liquide suivant :

Eau distillée..................	500 cmc.
Bichlorure de mercure	1 gr.
Acide chlorhydrique	2 cmc. 5

Après quoi nous les lavions de nouveau dans l'eau stérilisée. Les instruments qui nous servaient à cette opération étaient également stérilisés et flambés. Au moment de

couper les tubercules nous les passions un instant à la flamme d'un bec Bunsen. Nous avons employé pour ces cultures un milieu solide (moût de bière, eau et gélose). Nous avons obtenu facilement des cultures pures. Les colonies avaient la forme de petits disques de 4 à 5 mm. à développement lent et de couleur grisâtre. Les Bactéries sont des bâtonnets, plutôt allongés, de 2 à 3 μ. A l'une des deux extrémités on aperçoit un point chromatique et tout autour, à la périphérie du microorganisme, d'infiniment petits points également chromatiques. Les Bactéries sécrètent une faible quantité de mucus et y sont disposées séparément ou par 2 ou 3 en file. Il nous semble que le petit point chromatique qui se trouve à l'une des deux extrémités de la Bactérie prend part à la division de cette dernière, car nous le retrouvons dans les deux Bactéries filles. Nous avons surtout cherché à voir si la Bactérie possédait ou non un flagellum. Nous avons employé avec beaucoup de minutie les colorations spéciales qui sont indiquées dans les manuels pour mettre en évidence ces flagellum, mais n'avons pas réussi dans ces tentatives. Nous n'avons pas continué ces recherches si intéressantes, mais qui n'entraient pas dans le plan de notre travail.

DEUXIÈME PARTIE

DEUX CHAMPIGNONS PARASITES DES TUBERCULES DES LÉGUMINEUSES

PHYCOMYCÈTES

Pythium tuberculorum (Vuillemin) M. L. T.

Les premiers auteurs qui se sont occupés de la nature du Cryptogame qui provoque les tubercules des *Légumineuses* se sont heurtés à bien des difficultés. Ce qui a le plus compliqué les interprétations c'est surtout les deux aspects sous lesquels le *Rhizobium* se présente dans les tissus hospitaliers : les éléments en courts bâtonnets ou ramifiés (Bactéroïdes) et les filaments muqueux (porteurs des Bactéries), ces derniers justement ont été peut-être une des principales causes qui ait induit plusieurs savants à conclure à la nature mycélienne de l'hôte. Et Vuillemin (1888) en étudiant les tubercules radicaux des Légumineuses, trouve dans les nodosités de *Galega officinalis* et *Medicago disciformis* de véritables hyphes mycéliens, qui forment des sporanges. En poursuivant ses recherches il conclut que le champignon en question est une *Chytridinée* du genre *Cladochytrium* qu'il nomme : « *Cladochytrium tuberculorum* » Vuillemin, et qui provoque la formation des

tubercules. Mais on voit par son exposé et par ses dessins qu'il a confondu les filaments muqueux et les hyphes du véritable champignon qui infestent également les nodosités des plantes mentionnées plus haut. En 1905, Vuillemin avait reconnu que l'endophyte qu'il avait décrit précédemment n'est pas une *Chytridinée* mais un *Pythium* qui

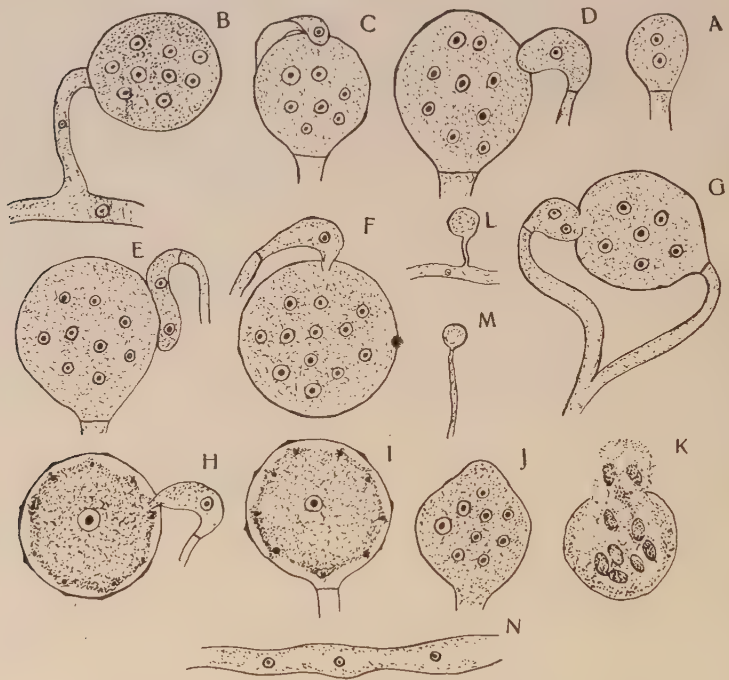


Fig. 33.— *Pythium tuberculorum* (Vuillemin) M. L. T. Dans un tubercule de *Coronilla iberica* Bieb. A. et B. - oogones, C. D. et E. - oogones et anthéridies ; F. et G. - Anthéridies dont le prolongement pénètre dans les oogones ; H. et I. - oosphères ; J. - sporange ; K. - sporange dont le contenu se vide ; L. et M. - conidies ; N. - filament mycélien.

n'a rien de commun avec les productions filamenteuses des tubercules auxquelles il donne le nom d'hyphoïdes.

Au cours de nos recherches sur les nodosités des *Légumineuses* nous avons aussi constaté dans un tubercule de *Coronilla iberica* la présence d'un *Pythium* que nous supposons identique à celui décrit par Vuillemin. Il faut

remarquer, que ce parasite avait provoqué une désorganisation complète de la zone moyenne et de la zone antérieure du tubercule envahi. Dans la première partie de notre travail (Pl. XV) nous avons décrit cette désorganisation qui n'a pas été notée par Vuillemin. Néanmoins cet auteur avait bien vu, que le mycélium pénétrait profondément dans les tissus du tubercule. Nous avons également remarqué jusque dans la partie centrale du tubercule la présence d'hyphes myicéliens parcourant les espaces intercellulaires et circulant dans les cellules après avoir traversé les membranes.

Avant de donner la description de *Pythium tuberculorum*, nous voudrions dire quelques mots sur sa position systématique.

Le genre *Pythium* est un petit groupe de champignons primitifs avec des formes aquatiques et terrestres. Il a été créé par Pringsheim (1858) pour deux espèces aquatiques. Ensuite Schenk décrivit en 1859 *P. gracile*, puis vinrent les travaux de De Bary (1860), Cornu (1872), Hesse (1874). En 1907, Butler publia une monographie du genre *Pythium*. C'est une étude très complète des travaux sur ce genre jusqu'à cette date. Les *Pythium* réunis primitivement aux *Saprolegniaceae*, le furent ensuite aux *Peronosporaceae*.

Dans l'ouvrage de Fitzpatrick (The Lower Fungi) le genre *Pythium* est placé dans la famille de Pythiaceae avec trois autres genres voisins.

PHYCOMYCETES	1. *CHYTRIDIALES*		
	2. *ANCYLISTALES*		
	3. *BLASTOCLADIALES*		
	4. *MONOBLEPHARIDALES*		
	5. *SAPROLEGNIALES*	*ALBUGINACEAE*	*PYTHIOGETON*
	6. *PERONOSPORALES*	*PYTHIACEAE*	*PYTHIUM*
	7. *MUCORALES*	*PERONOSPORACEAE*	*PHYTOPHTHORA*
	8. *ENTOMOPHTHORALES*		*TRACHYSPHAERA*

Les filaments mycéliens de *Pythium tuberculorum* sont des hyphes non cloisonnés, mesurant de 2 à 3 μ de diamètre et renfermant de place en place un noyau. Aux extrémités des hyphes il y a des parties plus ou moins renflées à structure alvéolaire et possédant de 1 à une dizaine de noyaux. Ce sont ou des sporanges ou des oogones non encore fécondés, mesurant jusqu'à 28 μ de diamètre. En observant bien ces derniers nous apercevons la cloison qui les sépare du filament mycélien ainsi que l'anthéridie bien accolée à leur périphérie. L'anthéridie provient d'un autre filament que l'oogone, ou d'une branche du filament qui porte l'oogone (Fig. 33 G). Nous n'avons pas observé d'anthéridies hypogynales dont parlent les auteurs et qui sont tout simplement une petite cellule au-dessous de l'oogone et formée sur le même filament qui porte l'oogone. Ces filaments mâles n'ont pas une forme bien déterminée. Ce sont de petits renflements terminaux, séparés comme l'oogone par une cloison du filament qui les porte. L'anthéridie située à la périphérie de l'oogone y envoie un fin prolongement en forme de canal par lequel passera son noyau pour venir féconder un seul des noyaux femelles. Après la fécondation, l'oogone devient une oosphère, c'est-à-dire un œuf. Les noyaux non fécondés se portent à la périphérie de l'oosphère et dégénèrent (Fig. 33 H et I). D'après les auteurs l'anthéridie possède de 1 à 3 noyaux. Ceci doit être exact, car nous avons observé des oosphères, c'est-à-dire des oogones déjà fécondés et dont l'anthéridie accolée possédait encore un noyau qui ne tarde pas vraisemblablement à périr (Fig. 33 H). La fécondation est suivie d'une modification du cytoplasme de l'oogone devenu oosphère. Il se forme une mince couche de protoplasme hyalin et très réfringent immédiatement au-dessous de la membrane de l'oosphère, puis une première zone de protoplasme granuleux et plus dense, et enfin une deuxième zone de protoplasme alvéolaire parsemé de petites vacuoles dans lequel se trouve le noyau double de

l'oosphère. Nous avons remarqué, en outre, qu'après la fécondation la membrane de l'oosphère s'épaissit et devient légèrement réticulée. A l'intérieur, l'oospore est d'un diamètre de 2 à 3 μ à peine inférieur à celui de l'oosphère, tandis qu'en général l'oospore est bien plus petite que l'oosphère. Il est probable que les oospores que nous avons observées étaient formées depuis peu et que le contenu de l'oosphère (l'oospore) se contracte progressivement pendant un certain temps ou tout simplement c'est un caractère de cette espèce de Pythium. D'autre part nous n'avons pas observé de germination de ces oospores. Ceci est explicable, car les oospores du Pythium germent après un laps de temps assez long.

Les sporanges, comme les oogones, peuvent être terminaux ou intercalaires ou enfin former une chaîne. Ils contiennent de nombreux noyaux qui représentent autant d'énergides pour la formation des zoospores. A la maturité ces dernières quittent le sporange en masse avec le reste du protoplasme vacuolaire (Fig. 33 K). Nous n'avons pas observé des zoospores libres comme les a décrites Vuillemin. Ce savant a pu voir les zoospores en mettant les tubercules dans l'eau pendant un certain temps avant de les examiner. Dans ces conditions, il voit s'échapper des zoosporanges qui se trouvent à la périphérie du tubercule, des zoospores à un flagellum. Il a observé également un rapprochement de deux zoospores, qui se séparent ensuite et il dit : « nous ne savons trop quelle interprétation attribuer à cette sorte de conjugaison ». En tout cas d'après certains auteurs, les zoospores des *Pythium* qui ne vivent pas dans un milieu aquatique germent souvent directement sans conjugaison préalable. Notons encore la présence de conidies arrondies, d'un diamètre de 4 à 5 μ, formées sur des conidiophores plus ou moins longs (Fig. 33 L et M).

Vuillemin a trouvé que ce champignon utilise l'amidon qui s'accumule dans les tubercules, mais nous pouvons dire

seulement que nous n'avons jamais trouvé trace d'amidon dans le tubercule envahi par ce Pythium que nous considérons comme un véritable parasite des tubercules radicaux des *Légumineuses*.

Nous avons créé cette nouvelle espèce, après l'avoir comparée avec toutes celles décrites dans la monographie du genre *Pythium* par Butler et avec lesquelles *Pythium tuberculorum* ne montrait pas des caractères identiques. Tantôt c'est l'habitat qui était très différent (par exemple aquatique) tantôt ce sont les dimensions de l'oogone, ou encore la position de l'anthéridie, enfin la membrane de l'oosphère qui devenait légèrement réticulée dans notre espèce.

La présence simultanée dans le même tubercule du Pythium et d'un nématode, nous a fait penser que le champignon pouvait avoir été introduit par le nématode. En effet, les nématodes sont souvent parasités par un *Pythium anguillulae aceti* Sadebeck. Cette supposition tombait immédiatement, car les oogones et les oosphères du parasite des Anguillules ont un diamètre de 6 μ, donc bien plus petit que celui des mêmes organes de *Pythium tuberculorum*.

Enfin dans un tubercule de *Robinia pseudoacacia* L. et dans un autre d'*Astragalus hirsutum* L. nous avons trouvé dans les premières couches cellulaires du manteau la présence des sporanges presque mûrs, mais plus volumineux que ceux de *P. tuberculorum* et surtout contenant un nombre bien plus considérable de spores. N'ayant pas un matériel suffisant pour l'étude de ces sporanges, nous n'avons pas pu déterminer le groupe du champignon auquel ils appartiennent.

ASCOMYCETES.

Ascorhiza Leguminosarum, g. nov. sp. nov.

Dans les cellules du manteau d'un tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes*, nous avons trouvé, par hasard, des hyphes mycéliens. Nous avons pu très facilement établir que ces filaments appartenaient à un *Ascomycète*, car à côté d'eux on apercevait de place en place de véritables périthèces avec asques et ascospores. Nous nous sommes mis tout de suite à rechercher les différents stades de la formation de ces organes. Malheureusement nos observations n'ont pu porter que sur les quelques coupes de ce tubercule qui était habité normalement par la Bactérie et par le mycélium du champignon. Les hyphes de l'Ascomycète du tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes* restent dans les couches du manteau et nous ne trouvons aucune anomalie dans la nodosité envahie par le champignon. Tout au contraire, nous avons remarqué que le tubercule était très bien développé et son deuxième hôte, le champignon également. Ce dernier avait même assuré sa reproduction sexuelle par périthèces et sa reproduction asexuelle par chlamydospores. Après un examen très détaillé des coupes, nous avons pu relever quelques stades de la formation des périthèces, des asques et des ascospores appartenant à cet Ascomycète parasite. L'intérêt que ce champignon a suscité en nous, nous a conduit à aborder la bibliographie du groupe auquel il appartient et en particulier celle qui se rapporte à la reproduction sexuelle des Ascomycètes, et où sont mêlés les noms de : De Bary, Brefeld, Dangeard, Harper, Barker, Claussen, Blackman, Wager, Maire, Guilliermond, Brown, Moreau, etc. Parmi tant d'interprétations différentes et plus ou moins hardies sur la fécondation sexuelle des *Ascomycètes*, celle

de Dangeard se justifie tous les jours par de nouveaux travaux. Sans nous arrêter davantage sur la bibliographie de la question nous essaierons de donner une description de notre *Ascomycète.*

Le thalle de ce champignon est représenté par des filaments plus ou moins longs et cloisonnés dont les articles sont uninucléés. Parmi les nombreux hyphes mycéliens, nous avons souvent recontré des filaments accolés parallèlement sur une certaine partie de leur longueur (Pl. XXXIX, Fig. 1 et 2) ou chevauchant à leur extrémité. Ces deux filaments se développant en même temps, ont à peu près la même taille et il est difficile de leur donner immédiatement les noms qui leur correspondent, notamment celui de trophogone au rameau stérile et d'ascogone au rameau fertile. Mais il n'est pas rare cependant que dès le début, l'ascogone se présente avec un plus grand diamètre.

Nous voulons remarquer ici, que les filaments mycéliens qui se trouvaient dans les couches extérieures du manteau étaient plus vigoureux et avaient des noyaux plus chromatiques. C'est également dans cette région que le champignon avait formé ses organes de reproduction. Tous les autres filaments qui s'étaient introduits un peu plus profondément dans les tissus du manteau et ceux de l'endoderme du tubercule, montraient une dégénérescence et aucun indice d'organes de reproduction.

Nous n'avons pas pu suivre l'apparition de la première cloison dans le filament du trophogone ni la division de son noyau, mais nous avons vu cependant des trophogones où les noyaux étaient complètement dégénérés et où ils n'étaient plus visibles à l'intérieur du filament déjà cloisonné. Dans les figures 1 et 2, planche XXXIX, le noyau de l'ascogone s'est divisé une fois, mais la cloison n'est pas encore apparue pour nous donner une cellule supérieure et une cellule basilaire. Les noyaux de l'ascogone sont notablement plus gros que ceux des autres filaments. Nous assistons ensuite à un enroulement du filament ascogène,

c'est-à-dire du gamétophore, dont le noyau a subi plusieurs divisions, suivies de quelques cloisonnements (Pl. XXXIX, Fig. 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9). A ce moment le premier filament recouvrant apparaît au-dessous de la cloison basilaire de l'ascogone, entoure le gamétophore, donnant ainsi naissance au périthèce. La première assise du périthèce est bientôt dédoublée. Les figures 10, 11 et 12 dans la planche XXXIX nous montrent le gamétophore enroulé et une ou deux assises de cellules du périthèce. Les cellules du gamétophore devenues plurinucléées se cloisonnent et donnent naissance à des articles binucléés qui ne sont pas autre chose que les diplogamètes dans lesquels se produira la fécondation (Pl. XXXIX, Fig. 13, 14 et 15). Parmi ces articles binucléés il y a un certain nombre de cellules libres uninucléées qui sont tout simplement des cellules nourricières. Une fois les cellules binucléées formées, elles se dissocient à l'intérieur du périthèce parmi les cellules nourricières. Le nombre des diplogamètes est très variable. Nous avons rencontré dans notre cas de deux à six articles binucléés et même plus. Les noyaux des diplogamètes sont plus volumineux et plus chromatiques que ceux des autres cellules du périthèce. Lorsque la fécondation est opérée dans ces diplogamètes, donc après fusion de leurs deux noyaux, nous avons une cellule œuf, qui grossit et peut atteindre jusqu'à 17 μ de diamètre (Pl. XXXIX, Fig. 14 et 15). Le noyau de l'œuf, c'est-à-dire de l'asque, se divise trois fois, et donne huit noyaux qui fournissent les énergides des huit ascopores.

Nous avons remarqué que la maturité ne se fait pas simultanément dans tous les asques. Dans les périthèces nous trouvons des diplogamètes à côté d'un œuf et d'un asque avec des spores déjà mûrs (Planche XXXIX, fig. 15).Dans les asques de ce champignon il n'y a pas d'épiplasme. Les ascospores sont ovoïdes et ont 9 μ sur 6 μ (Pl. XXXIX, Fig. 16). Elles ont à leur maturité une épaisse couche de protoplasme hyalin et dense, ainsi qu'une

membrane cutinisée et réticulée. Souvent ces ascospores sont binucléées et possèdent une sorte de sillon longitudinal. Les spores sont mises en liberté à l'intérieur du périthèce par destruction de l'asque. A la maturité des ascospores les cellules du périthèce commencent à se désorganiser : elles perdent leur noyau et leurs membranes se cutinisent. Les périthèces de cet Ascomycète mesurent 65 μ sur 40 μ. Il y en avait de plus petits où le nombre des asques était moindre également. Nous avons eu de très belles colorations de ces périthèces, asques et ascospores.

Nous avons dit au début de cet exposé que ce Champignon produisait aussi des chlamydospores, nous les avons représentées dans la Planche XXXIX, Figures 17, 18, 19 et 20. Pour le *Monascus Barkeri* Dang., M. P.-A. Dangeard décrit le phénomène suivant : « Pour le genre *Monascus*, le trophogone et l'ascogone montrent des modifications de forme et quelquefois l'ascogone au lieu de suivre son évolution normale se transforme tout simplement en chlamydospore ». Nous avons observé également ce phénomène et la figure que nous donnons dans la Planche XXXIX, Figure 22 ressemble étonnamment à celles de M. P.-A. Dangeard (« *Le Botaniste*, X^{e} série, Pl. XXXII, Fig. 6, 7 et 8) dont nous avons pris connaissance ultérieurement.

Nous pouvons conclure avec tous ceux qui ont confirmé la fusion dangeardienne, que la fécondation chez les Ascomycètes se fait à la base de l'asque et non à la base de la formation du périthèce.

D'après nos observations, ce Champignon se classe au voisinage des *Aspergillées* et des *Monascées* avec lesquelles il présente de nombreux caractères communs.

Dans une note que nous avons publiée dans les Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences (t. 192, p. 497 du 23 février 1931), nous avons proposé pour ce champignon qui nous paraît nouveau, le nom de *Ascorhiza Leguminosarum*.

Nous avons retrouvé depuis le même *Ascomycète*

dans les nodosités de plusieurs autres *Légumineuses* :
Ascorhiza Leguminosarum dans un tubercule de *Cytisus scoparius* L.

Malgré que nous n'ayons pu voir tous les stades du développement des organes de reproduction du champignon envahissant le tubercule de *Cytisus scoparius*, nous pouvons l'identifier à l'*Ascorhiza Leguminosarum* que nous avons rencontré, pour la première fois, dans un tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes* L., car les filaments mycéliens dans les deux tubercules ont le même aspect, les périthèces la même taille et les asques et ascospores les mêmes caractères morphologiques et dimensions. Les chlamydospores sont également identiques. Nous avons représenté dans la Figure 16 du texte l'aspect du tubercule envahi par les Bactéries, par l'*Ascomycète* et par un troisième hôte — un nématode. Nous voyons qu'un grand périthèce s'est formé dans une partie de la médulle et atteint de fortes dimensions (Pl. XL, Fig. 17), il est bien plus volumineux que les périthèces qui se forment dans les tissus du manteau du tubercule. Les deux couches de son péridium sont envahies par des Bactéries, tandis qu'en son centre se trouvent les cellules nourricières, les articles binucléés, des cellules œufs et un jeune asque avec quatre noyaux qui se diviseront encore une fois pour donner les huit énergides des huit ascospores. Nous remarquons que le noyau de l'œuf et les noyaux de l'asque sont entourés d'innombrables petits corpuscules chromatiques qui ne sont pas autre chose que des cytosomes. Dans d'autres périthèces, moins grands, nous avons trouvé des spores mûres. Ces dernières qui atteignent 10 μ de longueur sont souvent binucléées avec une membrane cutinisée et réticulée et un sillon longitudinal. Les asques ne parviennent pas simultanément à maturité. Dans un même périthèce nous trouvons des spores mûres à côté d'articles binucléés et des asques avec des noyaux en division. Dans la Planche XL, Figures 12, 13, 14, 15 et 16 nous avons reproduit le mycélium du champignon

et quelques stades de la formation du gamétophore ; la Figure 18 représente une spore binucléée et la Figure 19 des chlamydospores.

Ascorhiza Leguminosarum dans un tubercule de *Cytisus scoparius* var. Andreanus Hort.

Nous retrouvons l'Ascomycète installé dans les tissus d'un tubercule et même dans l'écorce de la racine. C'est ainsi que nous avons observé un périthèce mûr dans les couches extérieures de l'écorce d'une racine. Nous avons représenté quelques figures se rapportant au début de la formation du périthèce, par exemple l'ascogone avec ses nombreux noyaux avant la formation des articles binucléés (Pl. XL, Fig. 20) et l'enroulement du gamétophore (Pl. XL, Fig. 21). Nous avons remarqué de très jeunes périthèces dans le manteau et l'écorce du tubercule. A l'intérieur de ces jeunes organes il y avait des cellules binucléées et des cellules œufs où la fusion des deux noyaux avait eu lieu. Quelquefois nous avons observé deux périthèces formés dans une même cellule l'un à côté de l'autre. Les spores mûres sont uni ou binucléées et possèdent une membrane récutilée et cristulée (Pl. XL, Fig. 24) et un sillon longitudinal.

Nous retrouvons pour la quatrième fois le même Ascomycète dans les nodosités des Légumineuses, notamment dans un tubercule de *Brachysema lanceolatum* Meisn. Les quelques filaments entrelacés ou recourbés dont nous reproduisons l'aspect ne sont pas suffisamment différenciés pour que nous puissions en faire des ascogones et des trophogones. En tout cas nous restons avec l'impression que le filament ascogène s'enroule (Pl. XL, Fig. 1, 2, 3, 6 et 7). Nous avons pu voir de très jeunes périthèces et quelques-uns tout à fait mûrs (Pl. XL, Fig. 8 et 9). Ces derniers sont de différente grosseur. Certains mesurent jusqu'à 65 μ de diamètre. Les plus petits ont une longueur

de 30 μ et une largeur de 18 μ. Dans un des grands périthèces nous avons compté plus de 70 ascospores mûres, d'une forme ovoïde et souvent binucléées. Il nous semble que les filaments qui sont destinés à la formation des organes de reproduction sexuelle sont plus volumineux que les filaments végétatifs. Dans deux cellules mycéliennes nous avons vu le noyau au stade de la prophase avec le filament chromatique très net (Pl. XL, Fig. 4 et 5). En général les noyaux sont très visibles dans ces hyphes mycéliens.

A part ces quatre plantes dont les tubercules se trouvaient envahis par l'*Ascorhiza Leguminosarum* nous avons constaté la présence de filaments mycéliens, cloisonnés et uninucléés dans beaucoup d'autres nodosités, mais ne nous ne pouvions pas les rapprocher d'un groupe de champignons déterminé. Cependant dans des tubercules de : *Laburnum vulgare* gris, *Spartium junceum* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Genista sibirica* Reichb. et *Piptadenia rigida* les filaments mycéliens ainsi que les chlamydospores que nous y avons observées avaient tout à fait l'aspect de ceux de l'*Ascorhiza Leguminosarum.*

D'après nos observations nous pouvons conclure que les tubercules radicaux des Légumineuses sont fréquemment envahis par des hyphes mycéliens et que l'*Ascorhiza Leguminosarum* s'y rencontre assez souvent. Nous considérons en outre que ce même champignon se comporte envers la plante hospitalière tout simplement comme un parasite, mais qui n'est cependant pas d'une force destructive notable.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES ET CONCLUSIONS

Nous essaierons dans ce chapitre de souligner les faits les plus intéressants que nous avons constatés au cours de nos recherches.

Nous avons trouvé des nodosités sur les racines de toutes les *Papilionacées* que nous avons pu étudier. Les *Mimosées* cultivées en pleine terre dans le Midi en possédaient également, mais en serre, les racines de ces plantes en étaient souvent dépourvues. Quant aux *Cesalpiniées* il semble que les tubercules y soient assez rares, non seulement sur les exemplaires cultivés dans nos régions, mais aussi sur ceux qui poussent dans leur pays d'origine.

Les tubercules se trouvent en général sur les racines à une faible profondeur.

A.— *CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES*

Quelques plantes seulement présentaient des tubercules d'une forme très caractéristique, les *Robinia* (tubercules ayant la forme de petites coloquintes), les *Leucaena* (tubercules ressemblant à de petits grains de plomb). La plupart ont des formes plus ou moins allongées, arrondies ou digitées.

La couleur des tubercules est en relation avec leur âge et avec les conditions extérieures. Les jeunes tubercules sont de couleur claire, légèrement rosés ; les tubercules âgés sont marron foncé. Dans les terrains secs ils sont plus foncés que dans les terrains suffisamment humides. Leur taille est aussi très variable, on en trouve de tout

petits presque imperceptibles, tandis que d'autres peuvent atteindre plusieurs mm. de diamètre.

B. — *CARACTÈRES HISTOLOGIQUES*

a) *LES CELLULES SPÉCIALES*

Leur aspect peut être différent non seulement d'espèce à espèce, mais aussi d'un tubercule à l'autre et même d'une zone à l'autre dans un même tubercule. Alors que dans certains cas, l'hypertrophie est presque nulle, dans d'autres les cellules peuvent atteindre plus de 200 μ de longueur. Nous les trouvons aussi groupées de différentes façons : l'une à côté de l'autre formant une sorte de pavage ou dispersées parmi les cellules intermédiaires en nombre restreint. Les cellules de la zone antérieure ne contiennent que peu de Bactéries, celles de la zone moyenne en sont remplies et les cellules de la base ne renferment le plus souvent qu'un résidu amorphe provenant de la digestion des Bactéries.

Si dans certaines *Légumineuses* les cellules spéciales montrent une assez grande résistance au microorganisme, dans d'autres au contraire, les membranes sont déchirées et détruites très tôt. La plus ou moins grande résistance à l'envahisseur semble être spéciale à chaque cellule, en effet, nous avons rencontré dans un même tubercule, dans une même zone des cellules réagissant très différemment.

b) *L'ÉVOLUTION DU NOYAU*

Après de très nombreuses observations nous avons l'impression que la résistance du noyau est aussi très individuelle. A côté de noyaux qui réagissent à l'action du microorganisme et se défendent bien, il y en a d'autres qui

s'altèrent et se désorganisent rapidement. Nous considérons aussi que lorsque le noyau est très fortement attaqué dès la pénétration du filament muqueux il est condamné à périr tôt ou tard ; dans la plupart des cas où le noyau persiste encore même après la digestion du parasite, nous supposons que les Bactéries en pénétrant dans la cellule n'ont pas fait irruption en masse autour du noyau et que, en conséquence ce dernier a eu le temps de réagir.

Nous avons remarqué pour certains tubercules que, dès la pénétration du filament muqueux dans les jeunes cellules proches du méristème, les noyaux se contractent et se déforment immédiatement. L'hypertrophie survient ensuite. Suivant les cas l'hypertrophie du noyau est insignifiante, alors que dans d'autres, elle peut être considérable. C'est encore d'après les zones que le noyau des cellules spéciales se trouve plus ou moins déformé, hypertrophié ou désorganisé. Le nucléole s'hypertrophie comme le noyau ou forme des bourgeonnements et se désagrège en petits corpuscules chromatiques.

En s'hypertrophiant le noyau prend une structure réticulée et sa membrane s'amincit considérablement, ce qui permet finalement aux Bactéries d'y pénétrer. Ce phénomène est très rare et nous l'avons observé seulement dans des cas où la Bactérie était particulièrement virulente et où en même temps l'hypertrophie du noyau était très grande. La résistance du noyau est minimum après la désorganisation de son nucléole. En général les noyaux hypertrophiés résistent mieux aux microorganismes, cependant nous avons vu des noyaux très peu hypertrophiés qui ne persistaient pas moins dans les cellules hospitalières même après la digestion des Bactéries.

Les noyaux fortement hypertrophiés montrent souvent des formes très bizarres. Une fois le nucléole désagrégé et la membrane nucléaire très amincie les restes du nucléoplasme se disloquent au milieu de la cellule pour disparaître complètement petit à petit. Quelquefois il

ne persiste du noyau que de petits amas chromatiques.

c) *L'ÉVOLUTION DES BACTÉRIES*

L'évolution des Bactéries dans les tubercules des Légumineuses n'est pas moins intéressante. Même dans les cas où le microorganisme montre une grande virulence et conserve sa forme initiale de bâtonnet, néanmoins il s'allonge légèrement.

En général la Bactérie après la pénétration dans les cellules hospitalières se multiplie d'abord, s'allonge, grossit, devient claviforme ou piriforme, ramifiée ou sphérulaire. Parfois les bâtonnets deviennent ramifiés en forme de Y ou de X ; c'est ce qu'on appelle des Bactéroïdes. Ces derniers, lorsqu'ils n'atteignent pas une longueur considérable peuvent s'arrondir en sphérules et se vacuoliser avant d'être digérés par la plante. Nous avons remarqué que les tubercules des plantes ligneuses renferment rarement de vraies formes bactéroïdes comme par exemple celles que nous avons rencontrées dans *Bauhinia* sp.et *Coronilla iberica.* L'évolution de la Bactérie en sphérules est plus fréquente. Mais le plus souvent le microorganisme conserve sa forme en bâtonnet en s'allongeant ou en se recourbant plus ou moins. Dans la zone de la base de certains tubercules les bâtonnets bactériens sont aussi bien digérés comme les sphérules et les Bactéroïdes. L'évolution des Bactéries dans une même cellule ne se fait pas simultanément et lorsque la digestion survient elle atteint les formes les plus évoluées,c'est pourquoi nous trouvons dans une même cellule des sphérules digérées à côté des bâtonnets chromatiques. On rencontre également des cellules où tous les microorganismes, quel que soit le stade où ils se trouvent, sont digérés en même temps. La dimension initiale de la Bactérie varie de 0,4 μ jusqu'à 1,5 μ, avec l'évolution elle s'allonge et

mesure 4 à 5 μ. Les Bactéroïdes de *Bauhinia* peuvent atteindre jusqu'à 9 μ de longueur.

La disposition des Bactéries dans les différents tubercules d'un même pied n'est pas toujours la même. Dans un tubercule les cellules spéciales contiguës sans vacuole et pleines de microorganismes constituant une sorte de nappe de Bactéries, dans un autre les cellules spéciales hébergeaient très peu de Bactéries, dans un troisième le parasite formait à l'intérieur des cellules hospitalières une sorte de couronne entre la membrane cellulaire et la vacuole centrale, etc.

d) LE FILAMENT MUQUEUX

Nous l'avons observé dans presque tous les tubercules. Il est souvent très ramifié et se renfle au contact ou à l'approche du noyau. Les réactions de la cellule hospitalière liquefient sa substance muqueuse et les Bactéries qu'il englobe sont libérées et commencent aussitôt à se multiplier. Au passage d'une cellule à l'autre les ramifications du filament muqueux écartent les membranes cellulaires, s'élargissent, puis s'effilent de nouveau pour pénétrer la deuxième cellule. Quelquefois les ramifications sont en grande quantité non seulement dans la zone où commence l'infestation, mais dans toutes les cellules spéciales de la médulle. Ceci nous montre qu'elles sont assez résistantes aux réactions de la cellule ou qu'elles arrivent en telle quantité que cette dernière ne peut pas les liquéfier. Nous supposons que dans certains tubercules âgés il y a une seconde pénétration de filaments infestants. Ainsi dans des cellules de la zone basilaire où la Bactérie est presque complètement digérée, on voit arriver encore des filaments muqueux envahissant pour une seconde fois les cellules hospitalières qu'ils trouvent en grande partie déjà désorganisées, sans noyau et contenant seulement le résidu de la digestion du premier envahisseur. Dans les tuber-

cules d'*Arachis* et de *Cassia* il nous semble, que les Bactéries au moment de la pénétration sont enveloppées d'une quantité si minime de substance muqueuse qu'on ne peut presque pas l'apercevoir et qu'on voit tout simplement une file de Bactéries. Parfois le filament muqueux est très fin (1,2 μ) et les Bactéries y sont disposées en ligne droite, ou si gros qu'il ressemble à une bande mesurant plus d'une dizaine de microns. Les renflements qui se forment à son extrémité peuvent être également plus ou moins grands. Comme M. P. A. Dangeard nous considérons que les zooglées filamenteuses existent dans le milieu ambiant où se trouvent les racines et nous ajoutons qu'après la pénétration dans les tissus hospitaliers, elle se ramifient abondamment grâce à la division de ses éléments bactériens et à leur sécrétion muqueuse.

e) LE VACUOME

Dans les jeunes cellules du sommet d'un tubercule les vacuoles sont petites, tandis que les cellules hypertrophiées possèdent souvent une grande vacuole centrale, dont le chromidium n'est pas dense en général et forme sous l'action de certains fixateurs de très légères précipitations. Par contre le contenu vacuolaire des cellules intermédiaires, des cellules de l'écorce et de l'endoderme est plus riche en chromidium qui précipite par les mêmes réactifs en endochromidies sphériques ou mamelonnées.

f) LE CYTOME

Après une fixation au Regaud suivie de coloration à l'hématoxyline où à la safranine, les cytosomes se montrent comme de petits corpuscules sphériques ou légèrement allongés dans presque toutes les cellules d'un tubercule.

g) *L'AMIDON*

Les tubercules d'un grand nombre de plantes sont très riches en amidon, d'autres n'en possèdent qu'une petite quantité. Il se trouve localisé dans les cellules de l'écorce du tubercule, dans les cellules intermédiaires et même parfois dans les cellules spéciales. Les plastes des cellules du méristème au fur et à mesure que ces dernières entrent dans la zone d'infestation se transforment en amyloplastes. Les grains d'amidon sont d'après les espèces des plantes plus ou moins gros, simples ou composés, mais presque toujours d'une forme arrondie. Dans la zone basilaire ils se trouvent en grande partie digérés et utilisés par la plante Il y a une relation entre les cellules intermédiaires et la distribution des grains d'amidon. Là où les cellules intermédiaires font défaut ou sont peu nombreuses, ce sont les cellules spéciales qui possèdent une quantité de grains d'amidon en couches pariétales. Quelquefois il y a tellement d'amidon, surtout dans la zone moyenne de la médulle, qu'on peut dire que cette dernière ne renferme que des cellules intermédiaires avec beaucoup d'amidon et quelques Bactéries, ou que des cellules spéciales avec peu de Bactéries et beaucoup d'amidon. L'abondance d'amidon se traduit encore par la formation à côté de la médulle d'une sorte de poche constituée par des cellules parenchymateuses pleines d'amidon. Souvent tout l'amidon se trouvant dans un tubercule n'est pas utilisé.

C. — *LA SYMBIOSE*

Pour nous la symbiose dans le cas des tubercules radicaux des Légumineuses, existe entre la plante en général et le microorganisme, mais les cellules qui l'hébergent n'en profitent pas. Elles sont tout simplement le théâtre

de toutes les réactions qui vont permettre à la plante de tirer profit de la présence de la Bactérie dans certains de ses tissus. Nous voyons que les tubercules une fois formés n'ont pas la durée des racines ni celle des tubercules d'*Alnus* ou de *Myrica* qui ont une autre structure. Dans les tubercules des Légumineuses, lorsque la Bactérie est très virulente, elle finit par détruire leurs tissus, et lorsqu'elle est digérée par la plante, les cellules hospitalières, après avoir usé de leur pouvoir phagocytaire ne présentent plus une grande vitalité, leurs noyaux sont souvent détruits ou réduits à de simples vésicules achromatiques. Ces cellules sont donc également condamnées à périr après la digestion du microorganisme. Nous avons une preuve de leur faible vitalité dans le fait que, lors d'un nouvel envahissement des filaments muqueux, elles ne sont même plus capables de liquéfier la gaine muqueuse du filament.

L'équilibre dans la symbiose existe seulement dans les tout premiers stades du développement du parasite et du tubercule, lorsque la Bactérie fournit l'azote nécessaire à la plante et lorsque les Bactéries vivent au dépens de son hôte. Mais l'équilibre disparaît à partir du moment de la destruction des cellules hospitalières ou de la digestion du microorganisme. Il faut ajouter encore que l'équilibre symbiotique peut être rompu par l'action des agents extérieurs. Dans des conditions peu favorables au développement des tubercules (grande sécheresse ou humidité extrême) le microorganisme prend aussitôt le dessus sur les cellules hospitalières et les détruit. On peut se demander si la plante, en profitant de l'azote que la Bactérie fixe, rentre dans les dépenses qu'elle fait pour cette dernière. La réponse semble devoir être tout à fait affirmative dans le cas où la plante réussit à digérer la Bactérie.

D. — *LA SYSTÉMATIQUE*

En ce qui concerne la systématique de ces microorganismes nous sommes vraiment embarrassés. Il est difficile de les classer, surtout après avoir observé des différences très grandes dans les formes bactériennes non seulement d'une espèce de plantes à l'autre ou d'un tubercule à l'autre, mais jusque dans un même tubercule. Ces différences nous avons pu suffisamment les montrer au cours de notre exposé. Nous acceptons la systématique de M. P. A. Dangeard qui fait des Bactéries des Légumineuses la tribu des *Hyphoïdae* avec le seul genre *Rhizobium*. Mais il nous est actuellement impossible de distinguer des espèces bien définies, bien que nous soyons persuadés qu'il existe au moins plusieurs variétés. En tout cas la Bactérie des Légumineuses se montre extrêmement polymorphe. Jimbo, dans ses recherches : « On the serological classification of the Root-nodule Bacteria of Leguminous Plants » arrive aux conclusions suivantes : « *As for the fact that bacteria of serologically different kinds can exist in differents root-nodules of the same plant individual*... « « *It is of no wonder, that two or more serological kinds of bacteria, which are together peculiar to a plant, can infect different parts of the root of a single individual of the plant causing root-nodule formations thereupon, when they are present together in the soil around the root, and consequently, two or more kinds of bacteria can be found in different nodules on the same plant individual.* »

E. — *IMPORTANCE DU RHIZOBIUM CHEZ LES LÉGUMINEUSES LIGNEUSES*

Le fait qu'un grand nombre de Légumineuses ligneuses et exotiques se développent très bien dans nos régions

sans presque jamais former des tubercules sur leurs racines nous contraint à admettre que la symbiose avec le *Rhizobium* n'est pas aussi importante chez ces plantes que dans les cas des Papilionacées herbacées qui doivent rapidement assurer l'accumulation des réserves nécessaires à la formation de leurs graines riches en substances azotées.

F. — *LES CHAMPIGNONS DES TUBERCULES*

Nous avons remarqué très souvent la présence de filaments mycéliens dans les tubercules et d'après les organes de reproduction de ces hyphes, nous avons pu déterminer un *Pythium* et un *Ascorhiza Leguminosarum.* Le premier pénétrait jusque dans la médulle, le second restait plutôt dans les couches externes du manteau. Nous considérons ces deux champignons comme des parasites assez fréquents des tubercules radicaux des Légumineuses.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. Adametz. — Les champignons infimes de la terre des champs. Thèse, Leipzig, 1886.
2. Arcangeli. — Sopra i tubercoli radicali delle *Leguminose*. Atti del. real. Accad. d. Lincei, 7, Fasc. 6, 223, 1891.
3. Atkinson (G. F.). — Contributions to the biology of the organism causing leguminous tubercles. Bot. Gazette, 18, 1893.
4. Atwater (W. O.). — On the assimilation of atmospheric nitrogen by plants. Rep. Brit. A. A. S. 685, 1884.
5. Barker. — The Morphology and Develop. of the ascocarp in *Monascus*. Annals of Botany, XVII, 1903, p. 167-236.
6. Bartkel. — Contribution à la recherche des causes de la formation des bactéroïdes chez les bactéries des *Légumineuses*. Ann. Inst. Pasteur, 1921. Paris, p. 634-647.
7. Bary (A. de). — Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. Leipzig, 1884.
8. — Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. Sc. nat. Bot., 4e série, t. XX, 1863, p. 17.
9. — Ueber die Fruchtenwickelung der *Ascomyceten*. Leipzig, 1863.
10. Beijerinck (M. W.). — Die Bacterien der *Papilionaceen*-knöllchen. Bot. Ztg., XLVI, 725... 1888.
11. — Künstilche Infektion von *Vicia faba* mit *Bacillus radicicola*. Ernährungsbedingungen dieser Bacterie. Bot. Ztg., 48, 838, 1890.
12. Beijerinck (M. W.) und Van Delden. — Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. Centralbl. f. Bak. und Paras., p. 3-43, 1902, abt. 2,9.
13. Benecke (F.). — Ueber die knöllchen an den *Leguminosen*-Wurzeln. Botanisches Centralblatt, t. XXIX, 1887.
14. Bernard (Noël). — Conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux. C. R. A. Sc., 27 oct. 1902.
15. — Etudes sur la Tubérisation. Thèse. Rev. Gén. de Bot., t. XIV, 1902.
16. — L'évolution dans la symbiose. Ann. des Sc. nat. Bot., série 9, t. 9, p. 153.
17. Berthelot. — Fixation de l'azote par la terre végétale nue ou avec le concours des *Légumineuses*. Compte rend. A. Sc., 108, p. 700, 1889.
18. — Nouvelles recherches sur la fixation de l'azote par les microbes. Compt. rend. A. Sc., 115, p. 569, 1892.

19. Billwilley (J.). — Uber Stiekstoffassimilation einiger *Papilionaceen*, deren Bedeutung für die Landwirtschaft unter specieller Berücksichtigung schweizerischer Verhältnisse. Inaug. Disst. Bern., 1895.
20. Blackman (V. H.) et Fraser (H. C. J.). — Fertilization in *Sphaerotheca.* Ann. of. Bot., t. 19, 1905.
21. Blackman (V. H.) et Welsford (E. J.). — The development of the perithe cium of *Polystigma rubrum* D. C. Ann. of. Bot., t. 26, 1912.
22. Böhme (K.). — Stickstoff-ernährung der *Leguminosen.* Separat., 1892., Dresden.
23. Bolley (H. B.). — Notes on root tubercles of indigenous and exotic Legumes in virgin soil of Northwest. Ag. Science, 7, p. 58, 1893.
24. Borzi (A.). — Studii sulla sessualita degli *Ascomycete.* N. Giorn. Bot. Ital., vol. X, 1878.
25. Bottomley. — The Cross-inoculation of the Nodule-forming Bacteria from Leguminous and Non-leguminous Plants. Report Brit. Assoc., 1907.
26. Bousingault (J. B.). — Recherches chimiques sur la végétation entreprises dans le but d'examiner si les plantes prennent de l'azote de l'atmosphère. Compt. rend. A. S., 6, p. 102, 1838 ; 7, p. 138, 1838.
27. Breal (E.). — Observations sur la fixation de l'azote atmosphérique par les *Légumineuses* dont les racines portent des nodosités. Compt. rend. A. S., 107, p. 372, 1888. et 109, p. 670, 1889 ; 110, p. 670, 1890.
28. Brown (W. H.). — The development of *Pyronema confluens var inigneum.* Am. Journ. of. Bot., t. 2, 1915.
29. Brunchorst (J.). — Ueber einige Wurzelanschwellungen, besonders diejenigen von *Alnus* und den *Elacagnaceen.* Unters. a. d. bot. Inst. zu Tubingen, II, 1886.
30. — Ueber die knöllchen anden *Leguminosen* Wurzeln. Berichte der deutschen bot. Ges., t. III, p. 241, 1885.
31. Buhlert (H.). — Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbactérien der *Leguminosen* und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage. Habilitationsschr. Halle, 1902. Centralbl. Bact. Iéna, abt. 2. und 9, 1902.
32. Burgeff. — Die Wurzelpilze der *Orchideen.* Iéna, Fuscher, 1909.
33. Burrill Thomas (J.), Hansen Roy. — Is symbiosis possible between legume bacteria and non legume plants ? (Urbana Illinois, 1917 ; Bull., 202, p. 123).
34. Buscalioni et Mattirolo. — Si contengono bacteri nei Tubercoli radicali delle *Leguminose* ? Malpighia, t. I, 1887.
35. Butler (E. J.). — An account of the genus *Pythium* and some *Chytridiaceae.* Mem. Dep. Agric. India. Bot. Ser. 1, N. 5, p. 1-160, pl. 1-10, 1907.
36. Candolle (A. P. de). — Prodomus, t. II. Mémoire sur les *Légumineuses*, 1825.
37. Cappelletti (C.). — Itubercoli radicali delle *Leguminose* considerati nei

loro rapporti immunitari e morfologici. Ann. di Bot. dei prof. Pirotta, vol. XVII, fasc. 5. Roma, 1928.

38. CEILLIER (R.). — Recherches sur les Facteurs de la Répartition et sur le rôle des Mycorhizes (Thèse, Paris, Jouve, 1912, p. 1 à 256).

39. CHEVALIER (Aug.). — Sur la Mycocécidie du Gynophore de l'Arachide C. R. A. S., t. 191, p. 222, séance du 28 juillet 1930. Paris.

40. CHODAT. — Le noyau cellulaire dans quelques cas de parasitisme ou de symbiose intracellulaire. Paris, 1900.

41. CLAUSSEN (P.). — Zur Entwickelungs geschichte des *Ascomyceten*. Bot. Zeit., 1905.

42. CLOS (D.). — Du collet dans les plantes et de la nature de quelques tubercules. Annales des Sc. Nat. Bot., 3e série, t. XIII, 1850.

43. — Revision des tubercules des plantes et des tuberculoïdes des *Legumineuses*. Mém. de l'Acad. d. Toulouse, 9 sér., 5, 1, 1893.

44. COHN (F.). — Zur Geschichte der Leguminosenknöllchen. Centralb. f. Bakt. u. Par-kunde, 10, N. 6, p. 190, 1891.

45. CONN (H. W.). — Nature of the root tubercles of leguminous plants. U. S. Ex. Sta. Rec., 2, p. 686. 1890 and 1891, and 3, p. 56, 1891, and 1892.

46. CORNU (M.). — Etudes sur le *Phylloxera vastatrix*. Mémoires de l'Académie des Sciences, t. XXVI, 1878.

47. COWDRY. — The Independence of Mitochondria and the *Bacillus radicicola* in Root nodules. The Amer. journal. of. Anatomy, vol. 31, N. 4, mars 1923.

48. DANGEARD (P.-A.). — Du rôle de l'Histologie dans la classification des spores chez les Champignons. Le Botaniste, série V, 1897, p. 314-317.

49. — La sexualité dans le genre *Monascus* (Le Botaniste, série IX, 1903, p. 28-30.

50. — La reproduction sexuelle des champignons. Etude critique. Le Botaniste, série, VII, 1900, p. 89-130.

51. — La reproduction sexuelle des *Ascomycètes*. (Le Botaniste, série IV, 1894, p. 21-58.

52. — La reproduction sexuelle dans le *Sphaerotheca castagnei*. Le Botaniste, série V, 1896, p. 27-31.

53. — La structure des *Vaucheria* dans ses rapports avec la terminologie nouvelle des éléments cellulaires. La cellule, vol. XXXV, volume jubilaire, v. Grégoire.

54. — Les Ancêtres des Champignons supérieurs. Le Botaniste, série IX, 1903.

55. — Note sur les Mycorhizes endotrophiques. Le Botaniste, série II, 1891, p. 223.

56. DANGEARD (P.-A.) et ARMAND (L.). — Observations de Biologie cellulaire. (Mycorhizes d'*Ophrys aranifera*). Revue mycologique, 1898, p. 13-18.

57. — Observations de Biologie cellulaire. Le Botaniste, série V, 1897, p. 289-313.

58. Dangeard (P.-A.). — Plastidome, vacuome et sphérome dans *Selaginella kraussiana*. C. R. A. S., t. 170, 1920, p. 301.
59. — Recherches sur la reproduction sexuelle des Champignons. Le Botaniste, série III, 1894, p. 221.
60. — Recherches sur les Organismes inférieurs. Thèse, Paris, 1886.
61. — La reproduction sexuelle chez les *Ascomycètes*. C. R. A. S., mai 1894, p. 1065.
62. — Recherches sur le développement du périthèce chez les *Ascomycètes*. Le Botaniste, série X, 1907, p. 1-385).
63. — Recherches sur les Tubercules radicaux des *Légumineuses*. Le Botaniste, série XVI, janvier 1926.
64. — Second mémoire sur la reproduction sexuelle des *Ascomycètes*. Le Botaniste, série V, 1897, p. 245-284.
65. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome. Comptes rend. des Sc. de l'Acad. des Sc., t. 169, 1919, p. 1005.
66. — Théorie de la sexualité. Le Botaniste, série VI, 1899, p. 263-290.
67. — Mémoire sur la terminologie des éléments cellulaires et son application à l'étude des champignons. Le Botaniste, série XXII, fasc. VI, 1931, p. 325-490, pl. IX-XVIII.
68. Dangeard (P.-A.) et Lechtova-Trnka (Mme M.). — Sur les phénomènes de symbiose chez le *Myrica Gale*. Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, t. 188, p. 1584, 17 juin 1929.
69. Dangeard (Pierre). — Recherches de biologie cellulaire (Evolution du système vacuolaire chez les végétaux). Le Botaniste, série XV, juin 1923.
70. Daléchamp (Jacques). — Histoire générale des plantes, trad. J. des Moulin s(Lyon, 1615).
71. Dawson (M.). — On the Economic Importance of Nitragin. Ann. Bot., 15, 511, 1901.
72. — Further observations on the Nature and Functions of the Nodules of Leguminous Plants. Philosoph. Trans. Roy. Soc., vol. 193, série B, London, 1890).
73. — Nitragin and the nodules of Leguminous plants. Phil. Trans. of the Roy. Soc. of London, vol. 192, série B, 1900, p. 1-28.
74. Deherain (P. P.) et Demoussy (E.). — Inoculation des sols destinés à porter les *Légumineuses*. Nature. Paris, 1902.
75. Delpino. — Osservazioni sopra batteriocecidii sorgente l'azote in una piante. *Galega officinalis*. Malphigia, 2, p. 385, 1888.
76. Devaux. — Atmosphère interne des tubercules et racines tuberculoses. Bull. d. Soc. Bot. d. France, 37, p. 272, 1890.
77. Douliot et Van Tieghem. — Origine, structure et nature morphologique des tubercules radicaux des *Légumineuses*. Bull. Soc. bot. de France, t. XXXV, 1er mai 1888.
78. Drobnig. — Beitrage zur kenntniss der Wurzelknöllen. Inaug. Diss., 1892. Röstock.

79. Duesberg. — Chondriosomes et Bactéries dans les nodosités radicales des *Légumineuses*. Compte rendu de l'Assoc. des Anatomistes. Lyon, mars 1923).

80. Dufrenoy (M. J.). — Les modifications pathologiques de la structure des cellules végétales. Annale sde l'Institut national Agronomique, 2e série, t. XXIII, 39e vol. de la collect. Paris, 1930, p. 1-104.

81. Eftimiu (P.) et Kharbush (M. S. S.). — Le développement des périthèces et le phénomène de la réduction chromatique chez les *Erysiphacées*. Le Botaniste, série XX, 1928.

82. Eidam. — Zur Kenntniss der Entwickelung bei den *Ascomyceten*. Beiträge zur Biologie der Pflanz., vol. III, 1883.

83. Ericksson. — Studier öfver Leguminosernas rotknölar. Lund. 1874 et Résumé dans Botan. Zeitung, t. XXXII, 1874.

84. Farlow. — Tubercles on Leguminous Roots. Garden and Forest, I, p. 135, 1888.

85. Féher (D.) u. Bokor (R.). — Untersuchungen über die bakterielle Wurzelsymbiose einiger Leguminosenhölzer. « Planta », 1926. Bot. Centr., Bd., 151, p. 446.

86. Fisch (C.). — Beiträge zur Entwickelungs-geschichte einiger *Ascomyceten* Bot. Zeit., t. 40, 1882.

87. Fischer (A.). — *Phycomycètes* in Rabenh-orst's Kryptogamen Flora. 2e Auflage Band, I, 1892.

88. Fitzpatrick. — The Lower Fungi *Phycomycètes*. New-York, 1930.

89. Frank (B.). — Ueber die Parasiten in den Wurzelan. der *Papilionaceen*. Bot. zeitsch., t. 37, 1879.

90. Frank. — Ueber die physiologische Bedeutung der Mycorrhiza. Ber. d. D. Bot. Ges., t. 6, 1888, p. 248.

91. — Uber die Pilzsymbiose der *Leguminosen*. Ber. d. D. Bot. Ges. Bd., 7, 1889, p. 332-346.

92. — Ueber die auf Verdauung von Pilzen abzielende symbiose der mit endotrophen Mykorrhizen begabten Pflanzen sowie der Leguminosen und Erlen. Ber. d. D. bot. Ges., Bd. IX, 1891, p. 244.

93. Fraser. — Further contribution to the cytology of the *Ascomycetes*, Ann. of. Bot. 1908.

94. Fredreuel (Jones) and Tisdale (W. B.). — Effect of soil temperature upon the Development of nodules on the roots of certain Legume. Journ. of agricul. Rescarch, vol. 22, 1921, p. 17.

95. Gallaud (M. Is). — Etudes sur les Mycorhizes endotrophes. Thèse, Lille, 1904. Rev. gén. de Bot., t. XVII, 1905, p. 487.

96. Gasparrini (G.). — Observazioni sulla struttura dei tubercoli spongiolari di alcune piante leguminose. Lette all'Ac. di Napoli, 1851.

97. Gavaudan (Pierre). — Recherches sur la cellule des *Hépatiques*. Le Botaniste, série XXII, 1930, p. 105-294.

98. Gerretsen (F. C.), Gryns (A.), Sack (J.), und Söhngen (N. L.). — Das Vorkommen eine Bakteriophagen in den Wurzelknölchen der *Leguminosen*. Centralbl. f. Bakt., LX, 14-17, p. 311, 316, 1923.

99. Gonnermann (M.). — Die Bakterien inden Wurzelknöllchen der *Leguminosen*. Landw. Jahrb., 23, 649, 1894.

100. Guilliermond (A.). — Sur le nombre des chromozomes chez les *Ascomycètes*. C. R. de la Soc. de Biologie, 1905.

101. — Contribution à l'étude cytologique des *Ascomycètes* (C. R. Ac. Sc., 1903.

102. — Mitochondries et Symbiotes. Compte R. Soc. de Biol., t. 82, 1919, p. 309.

103. — Aperçu sur l'évolution nucléaire des *Ascomycètes*. Rev. Gén. Bot., t. XXIII, 1911.

104. — Contribution à l'étude de la formation des Asques et de l'épiplasme des *Ascomycètes*. Rev. gén. Bot., t. XVI, 1904.

105. Harper (R. A.). — Ueber das Verhalten der Kerne bei der Frucht. einiger Ascomyceten. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIX, Heft 4, 1896.

106. — Die Entwickelung des Perithecium bei *Sphaerotheca castagnei*. Ber. d. D. bot. Ges., t. 13, 1895.

107. — Sexual Reproduction in *Pyronema confluens*. Ann. of Bot., vol. XIV, 1900, p. 327.

108. Harrison and Barlow. — The Nodule-organism of the *Leguminoseae*. Proc. Roy. Soc. of Canada, 1906. Centr. f. Bakt, 2 Abt., Bd XIX, 1907, p. 264.

109. Hartig (R.). — Die pflanzliche Wurzel-parasiten. Allg. Forst. u. Iagdztg. April 118, 1888.

110. Hellriegel. — Unters. über d. stickstoffnahrung. Landw. Vers.-stat. Bd. XXXIII, 1886.

111. Hellriegel (H.) und Wilfarth (H.). — Erfolgt die Assimilation des freien stickstoffs durch die *Leguminosen* unter Mitwirkung niederer Organismen. Deut. Bot. Ges. Iahrgang. Bd. VII, H. 3, 1889.

112. — Untersuchungen über die stickstoffnahrung der *Gramineen* und *Leguminosen*. Berlin, 1888.

113. Henderson (George). — Leguminous plants recommended by Virgil to restore exausted soil. London, Proc. Linn. Soc., 115, 1903.

114. Hesse (R.). — Uber *Pythium debaryanum*, ein endophytischer Schmarotzer. Halle. Inaugr. Dissert., 1874.

115. Hiltner (L.). — Ueber die Ursachen, welche die Grösse, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzel-knöllchen der *Leguminosen* bedingen. Arb. Biol. Abth. f. Land. u. Forstw. Heft 2, 1901.

116. Hocquette (M.). — L'Evolution du noyau dans les cellules bactérifères des nodosités d'*Ornithopus perpusillus* pendant les phénomènes d'infection et de digestion intracellulaire. C. R. Ac. Sc., t. 191, p. 1363 du 22 déc. 1930.

117. Jimbo (Tadao. — On the Budding of Nucleoli in the Root-Nodule of *Wistaria*. Bot. Magazine, vol. XLI, N. 489. Toxyo, 1927.

118. — On the serological classification of the Root-Nodule Bacteria of Leguminous Plants. The bot. magaz., vol. XLIV, n. 519. Tokyo. March, 1930.

119. Keller. — Die Wurzelknöllchen der *Leguminosen*. Biol. Centralb., 9, p. 97, 1889.

120. Kionka (H.). — Die Wurzelknöllchen der *Leguminosen*. Biol. Centralbl., 11, p. 282, 1891.

121. Kirchner (O.). — Die Würzleknöllchen der Sojabohne. Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen, v. 7, 1895, p. 213-229.

122. Klebahn (H.).— Die neuesten Untersuchungen uber die Wurzelknöllchen. Humboldt, 148, 1890.

123. Klimmer (M.) und Kruger (R.). — Sind die bei den verschiedenen Leguminosen gefundenen knöllchenbacterien artverschieden ? (Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 40, 1914, p. 256.

124. Klimmer (M.). — Zur Artverschiedenheit der Leguminosen-knöllchenbakterien, festgestellt auf Grund serologischer Untersuchungen. Centralbl. f. Bakt., 2 Abt. Bd. 55, 1922, p. 281.

125. Kny. — Ueber die Wurzelanschwellung des *Leguminosen*. Sitz. des bot. vereins des Provinz Brandenburg, 1877.

126. — Ueber die Wurzelanschwellungen der *Leguminosen* und ihre Provinz Erzeugung durch Einfluss von Parasiten. Vereins der Brandenburg, 21, p. 55, 1879.

127. Koch (A.). — Zur Kenntniss der Fäden in den Wurzelknöllchen der *Leguminoseen*. Ber. d. deut. Bot. Ges., 5, p. 111, 1887, und in Bot. Ztg., 48, p. 597, 1890.

128. Konsuloff (St.). — Untersuchungen über die Rotatorien parasiten. Archiv. f. Protistenk., 360, 1916.

129. Kossowitsch (P.). — Durch welche Organe nehmen die *Leguminosen* den freien Stickstoff auf. Bot. Ztg., 50..., 1892.

130. Lachmann (J.). — Knollen an den Wurzeln der *Leguminosen*. Chem. Centralb. N. 18, 1892.

131. Laurent (E.). — Expériences sur la production des nodosités chez le pois à la suite d'inoculations. Bull. d. l'Acad. Roy. de Belgique. Sér. 3, 1, N. 6, p. 764, 1890.

132. — Sur le microbe des nodosités des *Légumineuses*. C. R. A. S., p. 754, 1890, vol. 2.

133. — Recherches sur les nodosités radicales des *Légumineuses*. Ann. Inst. Pasteur, t. 5, 1891, p. 105.

134. Laurent et Schlœsing, fils. — Sur la fixation de l'azote gazeux par les *Légumineuses*. C. R. A. Sc., 1890, t. III, p. 750-754.

135. Lawes and Gilbert. — Experiments on root tubercles and the fixation of atmospheric nitrogen. Abth. f. Ag. Chem. u. Landw. Ver. d. Ges. deut. Naturf. u. Aerzte. Halle Sept. 1891.

136. — Sources of nitrogen in leguminous plants. Jour. Rev. Ag. Soc., 3 sér., 2, 657, 1892.

137. Lechtova-Trnka (Mme M.). — Sur la présence d'un *Ascomycète* dans un tubercule d'*Astragalus alopecuroïdes* L. Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, t. 192, p. 497, 23 février 1931.

138. Lecomte. — Les tubercules radicaux de l'Arachide (*Arachis hygopaea*) L. Beihefte Bot. Centralbl, 65, 56, 1896.

139. Liebscher. — « Assimilation of nitrogen by leguminous and non leguminous plants ». Deut. landw. Presse, n. 104, 1080, 1892.
140. Lohnis (F.). — Nodule Bacteria of Leguminous Plants. Journal of Agricul. Research, 20, 1921.
141. Lonay (A.). — La question de l'azote et culture des *Légumineuses.* Nivelles, 1889.
142. Lumière (Auguste). — Le Mythe des Symbiotes. Paris, 1919.
143. Lundström. — Ueber Mycodomatien inden Wurzeln der *Papilionaceen.* Bot. Centralbl., t. XXXIII, 1888.
144. Mac Dougal (D. T.). — Titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants. Minnesota Botanical Studies. Bul. 9, Part. IV, sept. 1894.
145. — Symbiotic saprophytism. Ann. of Botany, XIII, 1899.
146. Maire (René). — Remarques sur la cytologie de quelques *Ascomycètes.* Soc. Biol., 1904.
147. Maire et Tison. — Nouvelles recherches sur les *Plasmodiophoracées.* Ann. Mycologici, vol. IX, 3, 1911.
148. Malpighi. — Anatome plantarum de Gallis .Opera, t. I, 1687.
149. Mangin (L.). — Observations anatomiques sur les Mycorhizes. Cinquantenaire de la Soc. de Biol., vol. jubil., 1899.
150. Marshall Ward (H.). — Symbiosis. Ann. of. Botany, vol. XIII, N° LII, 1899.
151. — On the Tubercular swellings on the Roots of *Vicia Faba.* Philos. Transact, 178, 1887.
152. Mattei. — Ancora sull'origine della *Vicia Faba.* Bacteriocecidii. Bologna, 1887.
153. Mattirolo (O.). — Si contengono bacterie nei tubercoli radicali delle *Leguminose.* Malpighia, 1 : Fasc. 10, 464, 11, 536, 1887.
154. Mazé. — Le microbe des nodosités des *Légumineuses.* Ann. Inst. Pasteur, XII, p. 1, 1898.
155. — Fixation de l'azote libre par le Bacille des nodosités des *Légumineuses.* Ann. de l'Inst. Pasteur, t. XI, 1897, p. 44.
156. Michel-Durand (M. E.). — Recherches physiologiques sur les composés tanniques. Rev. génér. de Bot., 1929.
157. Milodivov. — Ein neuer Leguminosenknöllchenmikrob (*Bacterium radicicola* forma *Carmichaeliana*). Centr. für Bact. Parasit. und Infekt. Bd. 73, 1928. Leipzig.
158. — Bactéries des tubercules radicaux de certaines *Légumineuses.* Publicat. d. l. Fac. des Sc. de l'Univ. Charles à Prague, N. 49, 1925.
159. — Recherches sur les Tubercules du Lupin. Revue génér. de Bot., 40, 1928.
160. Mirande (Marcel). — Sur la phytostérine des écailles des bulbes dans les espèces du genre *Lilium.* C. R. A. S., t. 180, 8 juin 1925, p. 1768.
161. Moller (H.). — Beiträge zur kenntnis der *Frankia subtilis.* Berichet der Deut. Bot. Ges. Bd VIII, 1889.

162. — Uber die Knöllchen an den Leguminosenwurzeln. Ber. d. deut. Bot. Ges., 1885.

163. Molliard (M.). — Hypertrophie pathologique des cellules végétales. Rev. génér. de Bot., 15, II, 1897.

164. Moore (G. T.). — Increasing the virulence of the tubercle forming bacteria in the *Leguminosae.* Paper read at Meeting of Naturalists, 1902-1903.

165. — Bacteria and the nitrogen problem. Learb of Depart. of Agricult., 1902 and soil inoculation for Legumes. Gouv. printing office Washington, 1905.

166. Moreau Fernand (M. et Mme). — Le développement du périthèce chez quelques *Ascomycètes.* Revue génér. de Botanique, t. XLII, N. 494, 1930.

167. Muller (A.), u. Stapp (C.). — Beiträge zur Biologie der Leguminosenknöllchenkabterien mit besonderer Berücksichtigung ihrer Artverschiedenheit. Art. Biol. Reichs. « Rec. Bot. Centralbl. Bd 151, 1926.

168. Nageli (C.). — Sur des champignons vivant dans l'intérieur des cellules végétales. Traduit du Linnaea, 1842, p. 278 ; in Ann. Sc. nat., 2e s., t. XIX, p. 86, 1843.

169. Naudin (Ch.). — Nouvelles recherches sur les tubercules des *Légumineuses*, Compt. Rend. A. Sc., t. 123, vol. 2, p. 666, 1896.

170. Neumann (P.). — Die Bakterien der Wurzelknöllchen der *Leguminosen.* Landw. Vers-Stat. 56 (2-3), 187, 1901.

171. Nobbe (F.). — Ueber einige neuere Beobachtungen betreffend die Bodenimpfung mit reinculturen knöllchenbakterien zur *Leguminosen.* Cultur. Bot. Centralbl., 78, 171, 1896.

172. — Ueber die Stickstoffernährung der *Leguminosen.* Verhandl. d. Ges. Deut. Naturf. und Aerzte. Versammlz. Bremen, 2, 551, 1890.

173. Nobbe (F.), und Hiltner (L.). — Ueber die Dauer der anpass-ungsfähigkeit der knöllchenbakterien an bestimmte *Leguminosen* Gattungen. Beihefte Bot. Centralbl., 75, 64, 1896.

174. — « The interchange between leguminous plants and the bacteria causing root tubercles » Sächss.Landw. Zeitschr., 165, 1893.

175. Passerini (N.). — Sui tubercoli radicli della *Medicago sativa.* L. Firenze. Bull. Soc. bot. Ital., 1901.

176. Peirce (G. J.). — The Root-tubercles of Bur Clover (*Medicago denticulata* Willd) and of some other leguminous plants, Proc. of. Califor. Acad. Sc. I (Ser. III, N. 2), p. 295, 1902.

177. Peyronel (Beniamino). — Prime ricerche sulle micorize endotrofiche e sulla micoflora radicicola normale delle fanerogame. Rivista di Biologia, vol. V, fasc. IV, vol. VI, fasc. I. Roma, 1924.

178. Pichi. — Alcune observazioni sui Tubercoli radicali delle *Leguminose* Atti della Societa Toscana di scienze naturali, 1888.

179. Pirotta. — Per la storia dei batteroidi delle *Leguminose.* Malpighia, 2 année, 1888, fasc. IV.

180. Portier (Paul). — Recherches sur les symbiotes. C. R. A. S., t. 165, p. 196, 3 juillet 1917.

181. Prazmowski. — Uber die Wurzelknöllchen der *Leguminosen*. Bot. Cent., 36, 1888.

182. Prillieux. — Sur la nature et la cause de la formation des tubercules, qui naissent sur les racines des *Légumineuses*. Bull. Soc. Bot. de France, t. 26, p. 98, 1879.

183. — Anciennes observations sur les tubercules des racines des *Légumineuses*. Compt. rend., 111, 926, 1890 et Bull. Soc. Bot. de France, 13, N. 1, 1891.

184. Rossi (Gino de).— Studi sul microorganismo produttore d. tuber. d. *Leguminose*. Ann. di Botanica, 1909, vol. VII, p. 653-669.

185. Schindler. — Zur kentniss der Wurzelknöllchen der *Papilionaceen*. Bot. Centralbl., t. XVIII, 1884.

186. — Ueber die Bedeutung dersog. Wurzelknöllchen bei den *Papilionaceen*. Journal für Landwirthschaft, 33 année. Berlin, 1885.

187. Schlœsing et Laurent. — Sur la fixation de l'azote gazeux par les *Légumineuses*. Compt. rend., 111, 115, 1892.

188. Schmitter (A.). — Die Impfung des Lehmbodens zu *Lupinen* mit bakterienrreicher Erde. Inaug. Diss. Heidelberg, 1893.

189. Schneider (Albert). — The Phenomena of symbiosis. Minnesota Botanical Studies. Bull. N. 9, Parts X and XI. May., 31, 1897, p. 923-948.

190. — Morphology of the root tubercles of the *Leguminosae*. Am. Naturalist, 27, 1893.

191. — Contributions to the Biology of *Rhizobia.*, III, Notes on the Winter and Early Spring Conditions of Leguminous Root Tubercles. Bot. Gaz, 35, 1903.

192. — Outline of the history of leguminous root nodules and rhizobia with titles of literature concerning the fixation of free nitrogen by plants, (Minnesota Bot. Studies. Third Serie Part II, 1903. Minneapolis, Minn.

193. Seignette (A.). — Recherches anatomiques et physiologiques sur les Tubercules. Thèse Paris, 1889.

194. Shibata. — Cytologische studien über die endotrophen Mykorrhizen. Iahrb f. wiss. Bot., Bd XXXVII, 1902.

195. Simon. — Ueber den Verwand d. Legum. Wurzel. bact. Centr. f. Bact. 2 abt., 41, p. 470-479.

196. Sorauer. — Zusammenstellung der neueren Arbeiten über die Wurzelknöllchen und deren als Bakterien angesprochene Inhaltskörperchen. Bot. Centralbl., t. XXXI, 1887.

197. Stefan (J.). — Studien zur Frage der Leguminosenknöllchen. Centralbl. f. Bakt. Abt., II, Bd. 16, 1906, p. 131-149.

198. Stutzer. — Neuere Arbeiten über die Knöllchenbakterien der *Leguminosen* und die Fixirung des freien stickstoffs durch die Thatigkeit von Microorganismen. Centralbl.. f Bakt. und Parasitenk, II, Abteil, Bd. I, N. 1, 68-74.

199. Terby (J.). — Etude cytologique sur les nodosités radicales des *Légumimeuses*. Acad. Roy. de Belgique. Cl. Sc. Mém., t. VIII, fasc. 8, p. 1-31, 1925. Bruxelles.

200. Thornton (H. G.). — The Early Development of the Root Nodule of Lucerne (*Medicago sativa* L.) Annals of Botany, vol. XLIV, Nº CLXXIV. London, April 1930.

201. Tréviranus. — Ueber die Neigung der Hülsengewächse zu unterirdischer Knollenbildung. Bot. Zeitung, t. XI, 1853.

202. Tschirch (A.). — Beiträge zur Kentniss der Wurzelknöllchen der *Leguminosen*. Ber. d. d. bot. Ges. Bd 5, 1887, p. 58-98.

203. Vines (S. H.). — On the relation between the formation of tubercles on theroots of *Leguminosae* and the presence of nitrogen in the soil. Ann. Bot., 2, 386, 1888-1889.

204. Vogel (J.) und Zipfel. — Beiträge zur Frage der Verwandtschaftsverhältnisse der Leguminosenknöllchenbakterien und deren Artbestimmung mittels serologischer Untersuchungs methoden (Centralbl. f. Bakt. etc. 2 abt. Bd. 54, 1921, S. 13.

205. Vries (de). — Wachsthumgeschichte des rothen Klees. Landw. Iahrbücher. Berlin, t. VI, 1877.

206. Vuillemin (Paul). — Hyphoïdes et Bactéroïdes. C. R. A. S., t. CXI, p. 52, 1905.

207. — Les Tubercules radicaux des *Légumineuses*. Ann. de la Science agronom. française et étrangère, t. I, 1888, Nancy.

208. Wagner (P.). — Ist es wahr das der weisse seuf den freien Stickstoff der atmosphärischen Luft aufnimmt und nach Art der *Leguminosen* Stickstoffbereichenden wirkt ? Deut. Landw. Presse, 20, 901, 1893.

209. Ward. (M). — On the tubercular swellings on the roots of *Vicia faba*. Phil Trans. Roy. Soc., 178, 139, 1887, London.

210. — On the tubercles of leguminous plants with special reference to the pea and bean. Proc. Roy. Soc., 46, 431, 1889.

211. Wendel (E.). — Zur physiologischen Anatomie der Wurzelknöllchen einiger *Leguminosen*. « Beitr. z. Allgem. Botan. », I, 1917.

212. Whiting (L.). — A bioch. Study of Nitrog. in certain Legumes. The University of Minnesota. Exp. stat. Bulletin, 138, 1914, p. 487.

213. Wigand (A.). — Bakterien innerhalb der geschlossenen Gewebe der knollenartigen Anschwellungen der Papilionaceenwurzel. Bot. Heft. Forsch. aus dem bot. Garten zu Marburg, 1887.

214. Winogradsky. — Recherches sur les organismes de la nitrification Ann. Inst. Pasteur. N. 4, 5, 12, 1890 ; N. 2, 9, 1891.

215. — Contributions à la morphologie des Organismes de la nitrification. Arch. d. Sc. Biol., St.-Pétersb., 87, 1892.

216. Winter. — Die Pilze II abt. *Ascomyceten* (in Rabenhorst Kryptogamen Flora). Leipzig, 1887, p. 30.

217. Woronine (M.). — Observations sur certaines excroissances que pré-

sentent les racines de l'aune et du lupin des jardins (Annales des Sc. Nat. Bot., 5e Série, V 7. Paris, 1867, p. 73-86, pl. VI.

218. Zippel (H.). — Beiträge zur Morphologie und Biologie der knöllchenbakterien der *Leguminosen*. Centralbl. f. Bact., 2-VIII-1912, t. 32, S. 97.

PLANCHES HORS TEXTE

PLANCHE XXIV

Albizzia species.

Fig. 1. — Cellule spéciale volumineuse, à noyau hypertrophié et à structure réticulée.
Bactéries à différents stades de leur évolution. Quelques sphérules vacuolisées.
Fig. 2. — Cellule intermédiaire avec quelques grains d'amidon (*a*) et des cytosomes (*c*).
Fig. 3. — Cellule spéciale dont la masse bactérienne est sillonnée de travées incolores d'apparence vacuolaire.
Fig. 4. — Filament muqueux à deux rangées de Bactéries dans de jeunes cellules du sommet du tubercule.
Fig. 5. — Cellule spéciale hypertrophiée et d'une forme très particulière.

Albizzia Lebbek Benth.

Fig. 6. — Petits tubercules terminaux.
Fig. 7. — Cellule hospitalière dont les Bactéries sont en grande partie digérées.
Fig. 8. — Cellules ligneuses possédant quelques Bactéries.

Acacia Bynoeana Benth.

Fig. 9. — Jeunes cellules dont le noyau est entouré de Bactéries.
Fig. 10. — Cellule spéciale de la zone basilaire contenant quelques Bactéries non encore digérées en forme de virgules, de bâtonnets recourbés, etc.
Fig. 11. — Deux cellules spéciales de la zone moyenne, à vacuole centrale.
Fig. 12. — Groupes de Bactéries dans de jeunes cellules dont l'enveloppe muqueuse est résorbée ; les microorganismes ne sont pas encore dispersés.
Fig. 13. — Bactéries avec un point très chromatique à l'une de leurs extrémités.
Fig. 14 et fig. 15. — Noyaux hypertrophiés avec bourgeonnement sur leurs nucléoles et Bactéries.
Fig. 16. — Noyau avec nucléole dont le bourgeonnement a pris la forme d'un entonnoir microscopique.
Fig. 17. — Cellule spéciale sans vacuole ; noyau très hypertrophié envahi par quelques Bactéries.
Fig. 18. — Cellule spéciale avec noyau dont le nucléole par une action mécanique se trouve à l'extérieur de la membrane nucléaire.

Acacia lineata A. Cunn.

Fig. 19. — Cellule spéciale dont les Bactéries sont disposées par petits groupes.

Acacia Melanoxylon R. Br.

Fig. 20 et 21. — Cellules jeunes du sommet du tubercule où le filament muqueux pénètre et envoie ses fines ramifications. Les Bactéries y sont très nettes.

Acacia dealbata Lk.

Fig. 22. — Cellule spéciale dont il ne reste des Bactéries qu'une masse amorphe. Dans les espaces intercellulaires les Bactéries sont très chromatiques.

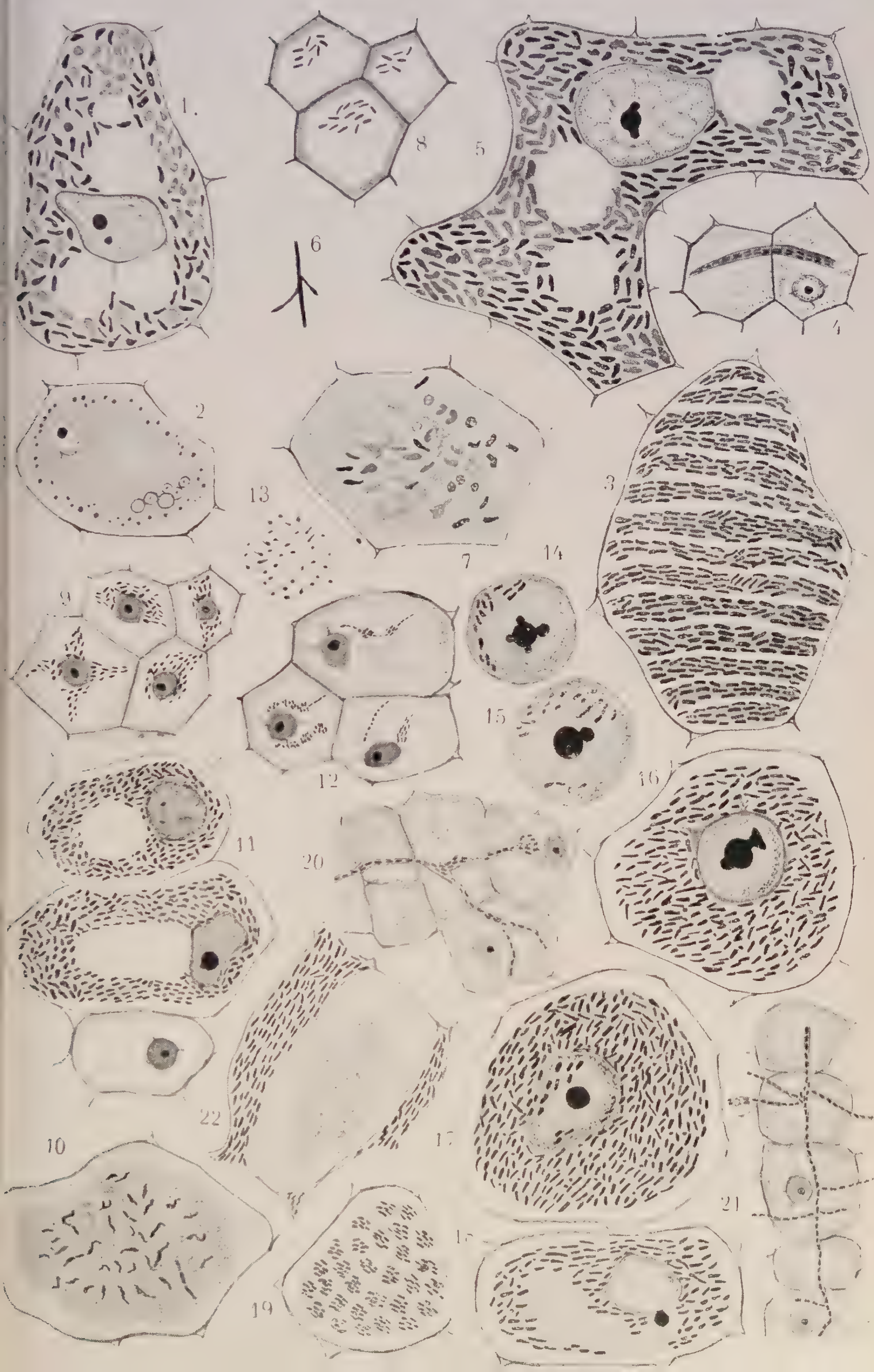

1.
8
5
6
4
2
3
13
7
14
9
12
15
16
11
20
22
10
17
21
19

PLANCHE XXV

Prosopis dulcis Kunth.

Fig. 1. — Cellule spéciale dont la membrane est complètement détruite. Les Bactéries se trouvent à différents stades de leur évolution.

Prosopis Nandubey Lorentz.

Fig. 2. — Renflements sur les radicelles.

Bauhinia species.

Fig. 3. — Cellules spéciales fortement hypertrophiées pleines de Bactéroïdes et de sphérules. Noyau dentelé autour de la vacuole centrale.
Fig. 4. — Cellules spéciales remplies de gros bâtonnets non encore évolués en Bactéroïdes.
Fig. 5-6. — Noyaux multilobés.

Cassia acutifolia Del.

Fig. 7. — Mycelium envahissant l'écorce d'une jeune racine.

Sophora Moorcroftiana Benth.

Fig. 8. — Cellule spéciale pleine de bâtonnets bactériens et possédant quelques petites vacuoles.
Fig. 9, 10, 11, 12, 13 et 14. — Cellules meristémales d'un tubercule, dont les noyaux se trouvent à différents stades de division.

Spartium junceum L.

Fig. 15. — Jeunes cellules spéciales presque pas hypertrophiées, dont les Bactéries sont encore en forme de bâtonnets.
Fig. 16. — Cellule spéciale légèrement hypertrophiée. Le microorganisme affecte des formes bizarres de bâtonnets recourbés.
Fig. 17. — Cellules spéciales dont la digestion de l'hôte a commencé. Quelques sphérules et d'autres éléments bactériens qui rappellent assez bien la forme des Bactéroïdes.
Fig. 18. — Noyau d'une cellule du meristème d'un tubercule. Le nucléole est gros.
Fig. 19. — Noyau d'une cellule spéciale avec un petit nucléole.

Genista florida Asso.

Fig. 20. — Jeune cellule spéciale avec des Bactéries en courts bâtonnets et quelques grains d'amidon.
Fig. 21. — Cellule spéciale de la zone moyenne, avec une vacuole centrale et des Bactéries de forme très irrégulière, qu'on peut prendre pour de petits Bactéroïdes.
Fig. 22. — Cellule spéciale de la zone basilaire dont le contenu bactérien est presque complètement digéré.
Fig. 23. — Cellule de l'écorce pleine de grains d'amidon.

Genista pilosa L.

Fig. 24. — Cellule spéciale pleine de Bactéries ressemblant dans leur évolution à la Bactérie des tubercules de *G. florida* L.
Fig. 25. — Cellule spéciale dont le contenu bactérien est complètement digéré le noyau y persiste.

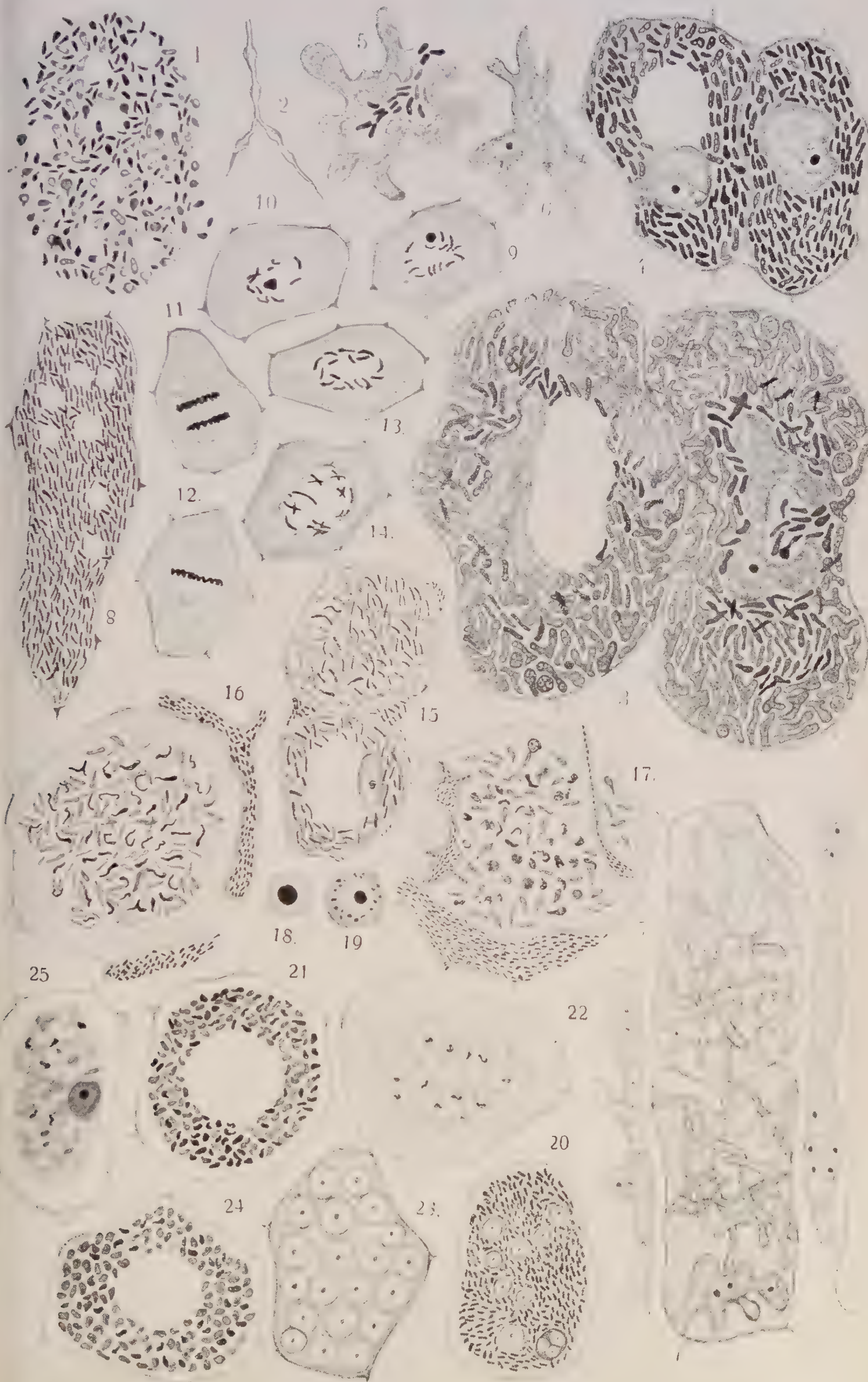

1
2
5
6
7
10
9
11
13
12
14
8
3
16
15
17
18
19
25
21
22
20
24
23

PLANCHE XXVI

Petteria ramentacea (Sieb) Presl.

Fig. 1. — Jeune cellule spéciale.
Fig. 2-3. — Cellules spéciales de la zone moyenne pleines de Bactérics dont certaines de forme ovoïde.

Cytisus capitatus Jacq.

Fig. 4. — Zooglées et filaments muqueux dans les espaces intercellulaires et même dans les cellules spéciales où les Bactéries ont été digérées.
Fig. 5. — Bactéries disposées en capuchons aux deux pôles d'un fuseau.
Fig. 6. — Jeune cellule envahie par le microorganisme.
Fig. 7. — Cellule de la zone moyenne, possédant une couche pariétale de grains d'amidon ; les Bactéries sont encore en forme de bâtonnets.
Fig. 8. — Cellules de la zone basilaire dont la plupart des Bactéries a été digérée ; il persiste encore quelques formes ramifiées de Bactéroïdes.

Cytisus purgans (L.) Willek.

Fig. 9. — Jeune cellule envahie par les Bactéries.
Fig. 10. — Cellule spéciale de la zone moyenne avec une grande vacuole centrale. Les éléments bactériens sont très polymorphes.
Fig. 11-12-13. — Noyaux légèrement hypertrophiés, mais déformés dont le nucléole bourgeonne.

Cytisus scoparius Lk.

Fig. 14-15. — Deux cellules spéciales : l'une avec plusieurs petites vacuoles, l'autre avec une seule. Le noyau n'est presque pas hypertrophié.
Fig. 16. — Cellule du sommet du tubercule où les filaments muqueux arrivent et entourent les noyaux.
Fig. 17. — Cellule spéciale hypertrophiée ainsi que son noyau. Cellules intermédiaires pleines de grains d'amidon. Bactéries arrondies.
Fig. 18. — Cellule spéciale dont les Bactéries ont perdu leur chromaticité. Filament muqueux qui persiste même après le commencement de la digestion des Bactéries.

Cytisus Scoparius Var. Andreanus (Hort).

Fig. 19. — Jeunes cellules du sommet du tubercule.
Fig. 20. — Cellule spéciale de la zone moyenne, dont les Bactéries sont très déformées et recourbées.
Fig. 21. — Cellule spéciale de la zone de la base, le microorganisme est devenu plus arrondi.

Cytisus sessilifolius L.

Fig. 22-23. — Deux cellules spéciales, dans l'une la Bactérie est seulement allongée et recourbée, dans l'autre le microorganisme est plus ou moins arrondi.

Cytisus virescens.

Fig. 24. — Cellule dont le noyau se trouve en division malgré la présence de Bactéries.
Fig. 25. — Cellule spéciale de la zone moyenne dont les Bactéries n'ont pas subi encore une évolution notable.
Fig. 25-26. — Deux aspects des noyaux hypertrophiés.

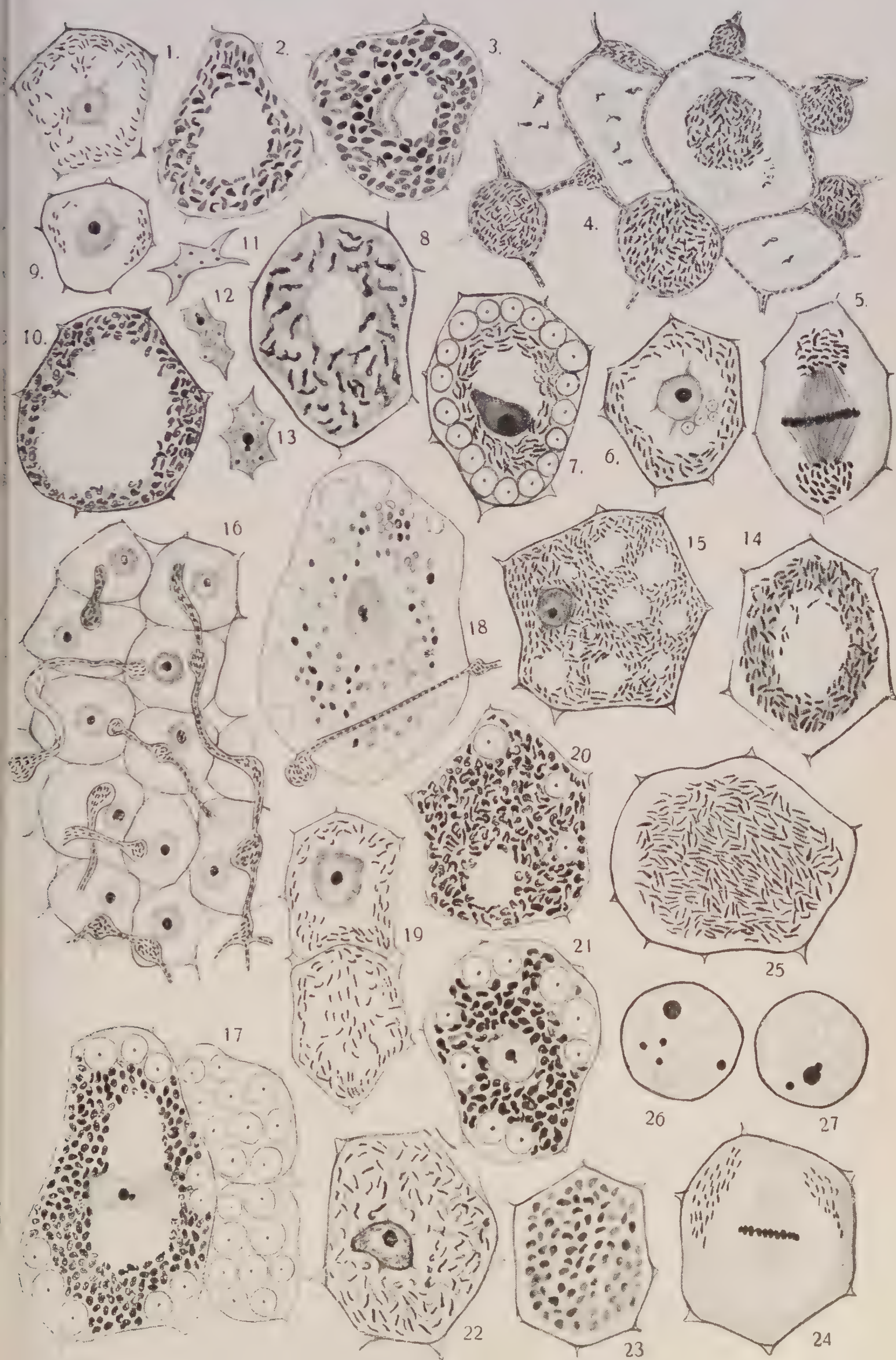

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8
9.
10.
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

PLANCHE XXVII

Cytisus scoparius Lk.

Fig. 1. — Filament muqueux envoyant ses ramifications dans les jeunes cellules du méristème autour de leurs noyaux. Les Bactéries se colorent en violet.

Fig. 2. — Cellules spéciales dont les Bactéries se trouvent à différents stades de leur évolution. Les éléments encore jeunes se colorent en violet ; ceux dont la chromaticité a diminué prennent la safranine et les sphérules jaunes en voie de digestion sont teintées par l'orange G.

Fig. 3. — Cellules de la zone de la base. Les Bactéries ont été presque toutes digérées, mais il y a eu ensuite un deuxième envahissement de la même cellule par les filaments muqueux, qui ont versé une quantité de Bactéries très chromatiques prenant le violet.

Trifolium alpinum L.

Fig. 4. — Cellule spéciale pleine d'éléments bactériens. les uns encore chromatiques prennent le violet, les autres, au contraire, achromatiques sont teints en jaune par l'orange G.

Carmichaelia australis R. Br.

Fig. 5. — Cellule spéciale dont les Bactéries évoluées en petites sphérules sont en voie de digestion et se colorent seulement par l'orange G. Les grains d'amidon, au contraire, ne sont pas encore digérés.

Fig. 6. — Cellule de l'écorce d'un tubercule contenant des grains d'amidon composés à différents stades de digestion.

Caragana tragacanthoides Poir.

Fig. 7. — Cellules du méristème du tubercule et jeunes cellules spéciales. Dès la pénétration du filament muqueux, les noyaux se contractent, deviennent irréguliers de forme et ensuite s'hypertrophient.


2.
7
3
5.
4
1.
6.

PLANCHE XXVIII

Ononis viscosa L.

Fig. 1. — Jeune cellule spéciale où le microorganisme est encore au stade de bâtonnet.

Fig. 2-3. — Cellules spéciales fortement hypertrophiées ainsi que leurs noyaux dont le nucléole montre des tâches claires. Bactérie piriforme.

Fig. 4. — Cellule spéciale remplie de gros grains d'amidon avec quelques Bactéries dans les intervalles.

Fig. 5. — Cellule spéciale avec grains d'amidon en couche pariétale, et Bactéries disposées en couronne entre l'amidon et la vacuole centrale.

Ononis repens L.

Fig. 6. — Cellule spéciale dont les Bactéries sont disposées radialement par rapport à la membrane cellulaire. A côté une cellule intermédiaire avec des précipitations à structure alvéolaire.

Fig. 7. — Cellule spéciale dont les microorganismes se trouvent à un stade plus avancé de leur évolution. La digestion des Bactéries commence par les éléments qui se trouvent au centre de la cellule.

Ononis Natrix L.

Fig. 8. — Cellule spéciale très hypertrophiée possédant quelques gros grains d'amidon et des Bactéries piriformes. Dans la vacuole centrale, il y a un léger précipité sur lequel se trouvent quelques éléments bactériens. Le noyau a pris une forme de croissant autour de la vacuole et son nucléole montre un bourgeon. A côté deux cellules intermédiaires avec quelques Bactéries entre les grains d'amidon.

Fig. 9, 10, 11, 12, 13 et 14. — Différents aspects du filament muqueux et de ses ramifications à travers les espaces intercellulaires et dans les cellules envahies.

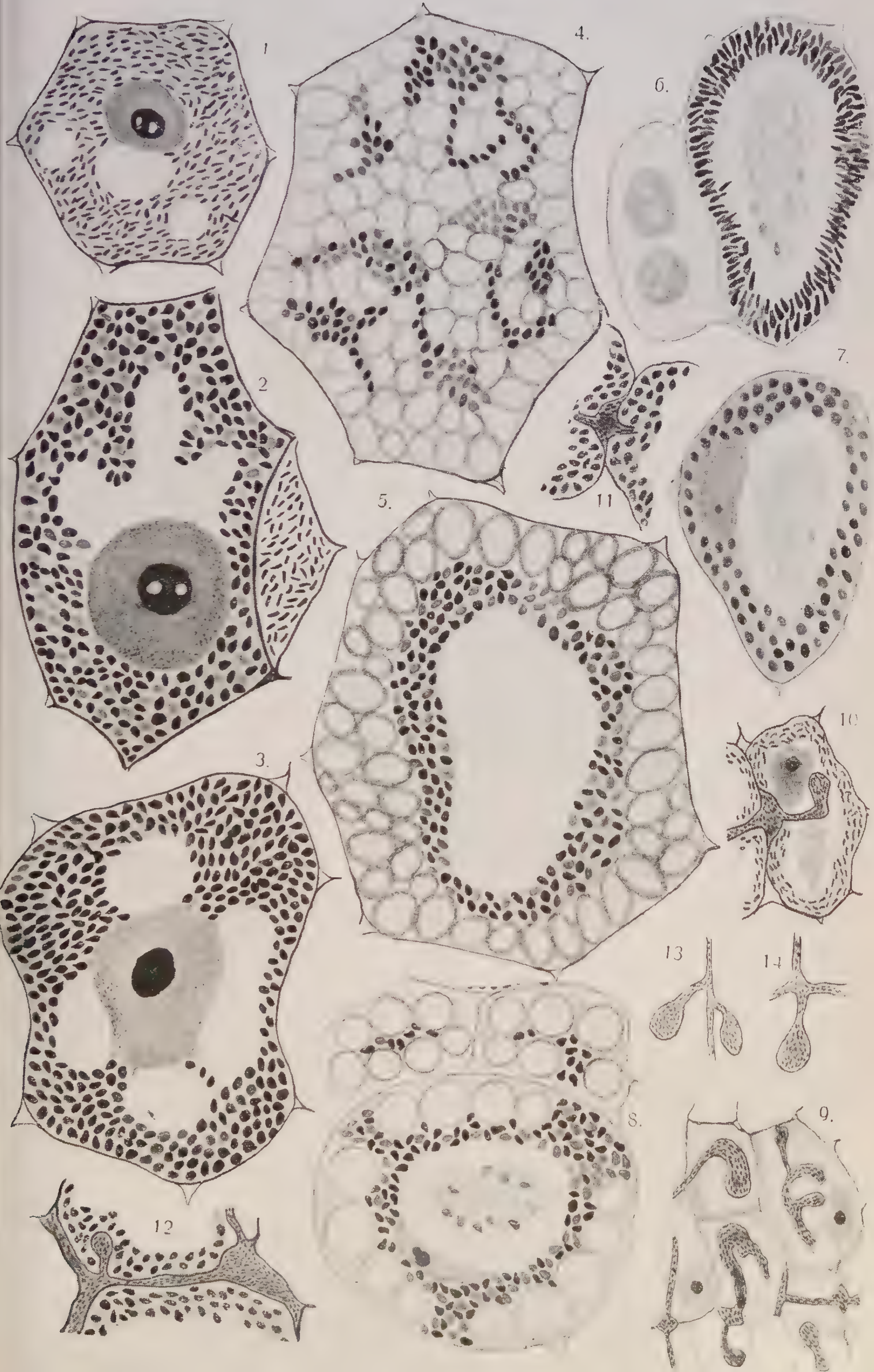

1
2
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10
11
12
13
14

PLANCHE XXIX

Medicago arborea L.

Fig. 1. — Jeunes cellules du sommet d'un tubercule où les ramifications du filament muqueux pénètrent et provoquent immédiatement une hypertrophie du noyau.
Fig. 2. — Jeune cellule spéciale avec un gros noyau et quelques petites vacuoles ; les Bactéries en forme de bâtonnets.
Fig. 3. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée avec des grains d'amidon en couche pariétale et des Bactéries en forme de massue, dont la partie renflée est tournée du côté de la membrane cellulaire.
Fig. 4. — Cellules intermédiaires pleines de grains d'amidon et contenant quelques éléments bactériens ; on n'aperçoit pas le noyau.
Fig. 5. — Cellule spéciale très hypertrophiée, les Bactéries sont disposées en couronne autour de la grande vacuole et leur extrémité renf ée est orientée vers le centre de la cellule.
Fig. 6. — Cellule spéciale dont le noyau se trouve entre les deux vacuoles. Sa chromatine s'étale sur toute sa surface.
Fig. 7. — Quelques Bactéroïdes.
Fig. 8. — Cellule intermédiaire pleine de grains d'amidon de taille plus petite au centre que vers la périphérie de la cellule.

Trifolium alpinum L.

Fig. 9. — Cellule spéciale avec des Bactéries et un gros filament muqueux qui envoie ses ramifications vers le noyau.
Fig. 10. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée avec une couche pariétale de gros grains d'amidon et des Bactéries de forme allongée. A côté, quelques petites cellules intermédiaires.
Fig. 11. — Cellule de l'écorce du tubercule pleine de grains d'amidon de taille plus petite au centre des cellules, et plus volumineux vers la périphérie.

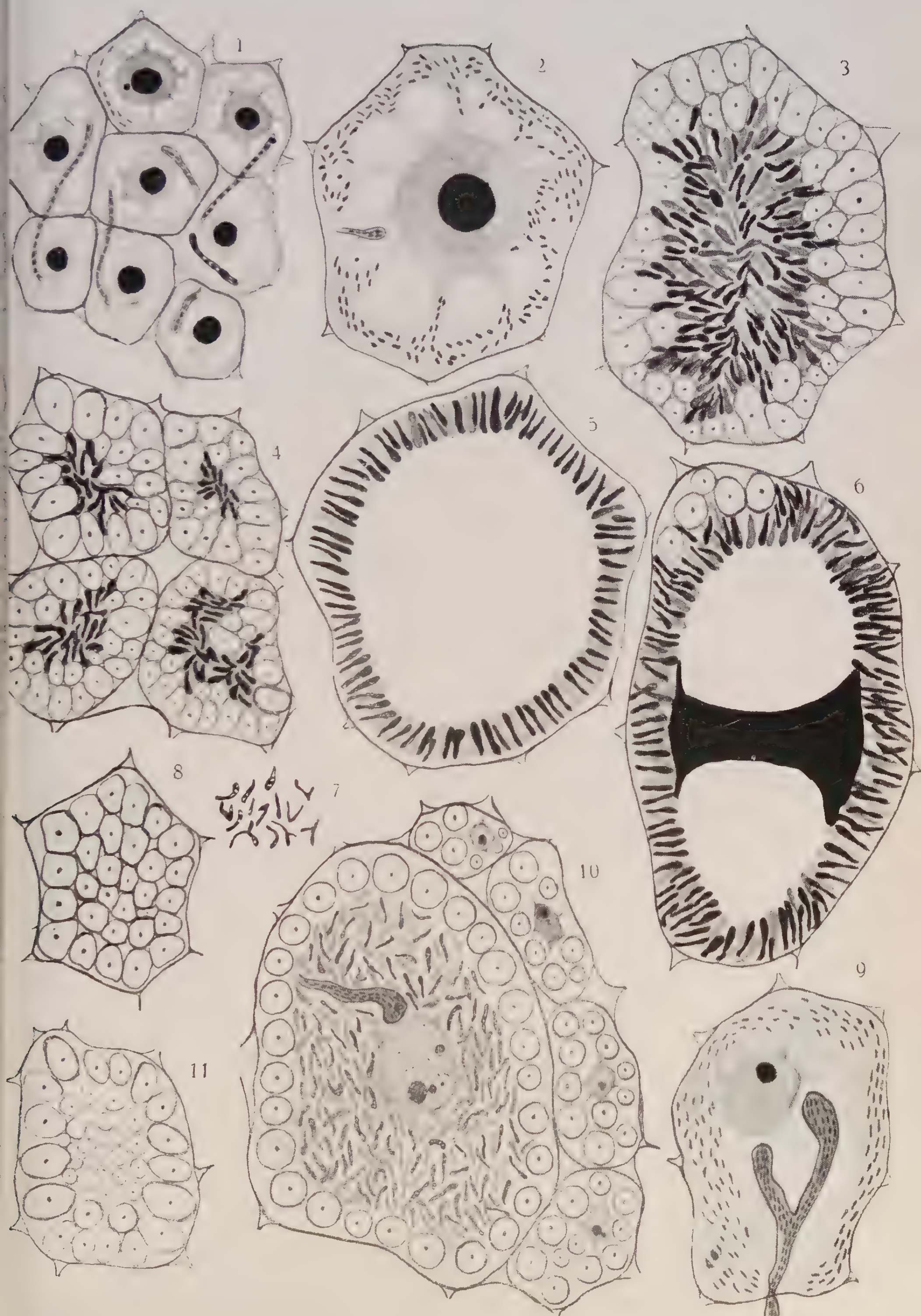

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

PLANCHE XXX

Indigofera macrostachya Willd.

Fig. 1. — Cellules du sommet du tubercule dans lesquelles pénètrent les branches du filament muqueux. Un filament très fin s'insinue dans un noyau.
Fig. 2. — Cellule spéciale à Bactéries allongées. Son noyau est fortement hypertrophié et attaqué par les ramifications du filament muqueux.
Fig. 3. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée, Bactéries en courts bâtonnets. Noyau envahi par quelques éléments bactériens.
Fig. 4. — Cellule spéciale de la zone basilaire à membrane déchirée. Le microorganisme affecte une forme plus ou moins arrondie, il se trouve à un stade de digestion et quelques bâtonnets seulement gardent encore leur chromaticité.
Fig. 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 et 15. — Noyaux présentant différents aspects d'hypertrophie, de déformation et de désorganisation. Quelques-uns sont même envahis par un petit nombre de Bactéries.

Indigofera artropurpurea Horn.

Fig. 16. — Cellules spéciales : l'une possédant de petites vacuoles autour desquelles sont dispersées les Bactéries, l'autre contenant des Bactéries plus allongées, mélangées aux courts bâtonnets.
Fig. 17. — Cellule spéciale à petites vacuoles. Le microorganisme est légèrement renflé à l'une de ses extrémités.
Fig. 18. — Cellule intermédiaire pleine de gros grains d'amidon.
Fig. 19. — Cellule spéciale de la base du tubercule où la digestion des Bactéries a eu lieu, il ne persiste que quelques éléments achromatiques.
Fig. 20. — Cellule spéciale où la masse bactérienne est fragmentée en lambeaux plus ou moins grands.
Fig. 21. — Cellule du manteau du tubercule pleine également de Bactéries.
Fig. 22. — Digestion des grains d'amidon, on n'aperçoit plus qu'une enveloppe mince et disloquée.


1
2
3
4
16
12
13
17
19
14
15
18
11
10
20
22
8
9
7
6
5
21

PLANCHE XXXI

Wistaria chinensis D. C. var. Grandiflora (W. Multijuga Hort.) Sieb

Fig. 1. — Quelques cellules spéciales et intermédiaires. Vers la zone de la base, les cellules spéciales sont complètement détruites, mais la Bactérie conserve sa forme, sa chromaticité et sa virulence.
Fig. 2. — Quelques Bactéries filamenteuses mélangées aux courts bâtonnets. Les premières sont sûrement occasionnelles.

Robinia pseudoacacia L.

Fig. 3. — Ramifications du filament muqueux pénétrant dans les jeunes cellules du méristème.
Fig. 4. — Cellule spéciale pleine de Bactéries, possédant quelques petites vacuoles et un noyau très hypertrophié.
Fig. 5. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée.
Fig. 6. — Fragment d'une masse bactérienne, parsemée de petites vacuoles et traversée par des filaments mycéliens. Les membranes cellulaires n'existent plus.
Fig. 7, 8, 9 et 10. — Différents aspects des noyaux hypertrophiés.
Fig. 11. — Cellule spéciale pleine de Bactéries et sans vacuole.
Fig. 12. — Cellule spéciale de la medulle d'un tubercule âgé. On y remarque la présence d'une zooglée englobant encore les Bactéries, que nous supposons appartenir à une seconde infestation.
Fig. 13. — Un tubercule.

Robinia viscosa Vent.

Fig. 14. — Cellules du méristème où les noyaux sont à différents stades de division et où le filament muqueux fait son apparition.

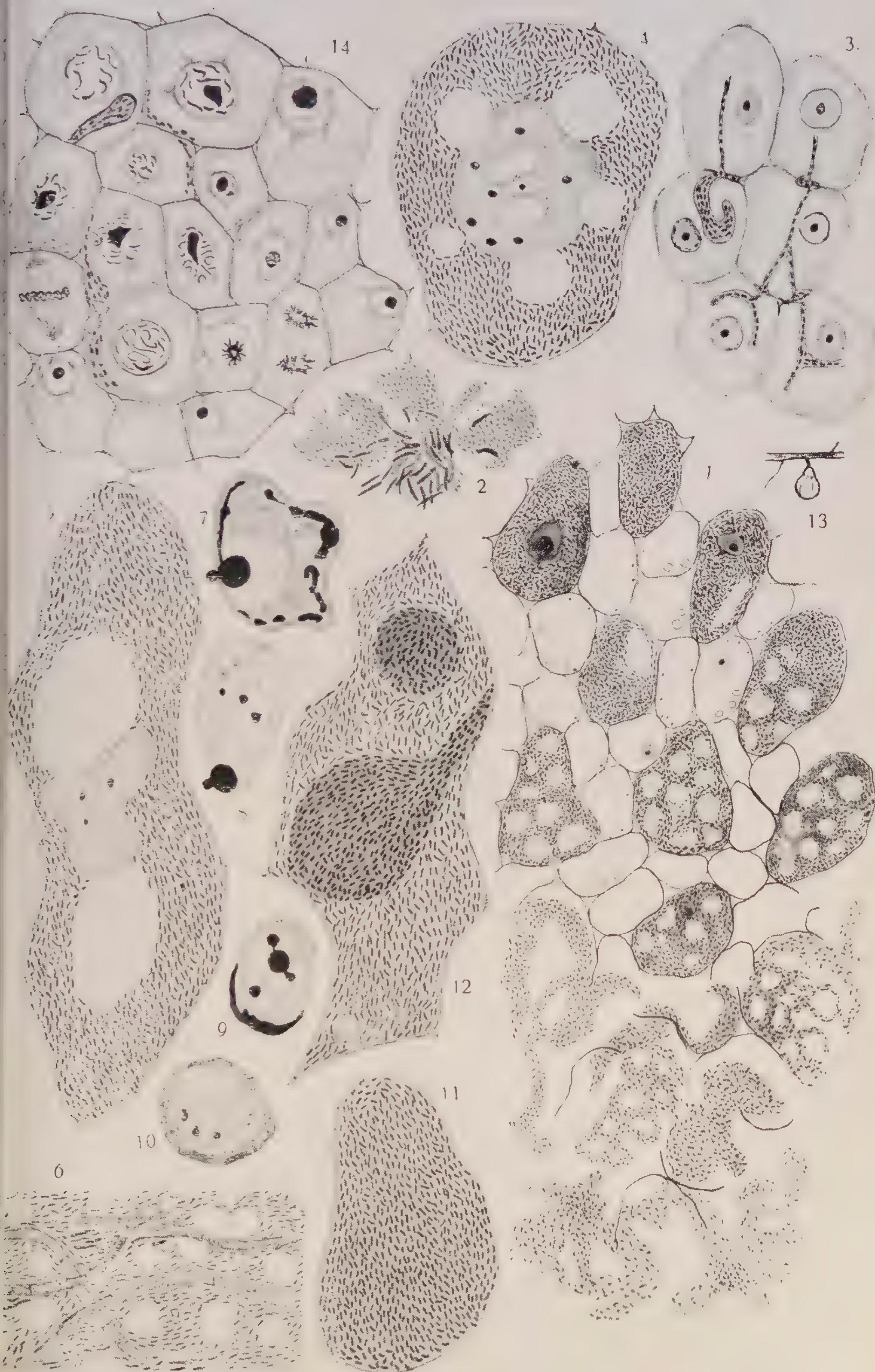

14
4
3.
2
1
13
7
12
9
11
10
6

PLANCHE XXXII

Carmichaelia australis R. Br.

Fig. 1. — Cellule spéciale dont les Bactéries évoluent en petites sphérules.

Fig. 2. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée, possédant plusieurs vacuoles, un noyau amœboïde et des Bactéries claviformes.

Fig. 3. — Cellules spéciales dont le contenu bactérien a été digéré, et dans lesquelles ont pénétré pour une seconde fois une quantité de ramifications du filament muqueux.

Fig. 4. — Cellule spéciale possédant deux couches pariétales de grains d'amidon. Les Bactéries y sont assez polymorphes et ressemblent d'aspect à celles des tubercules de *Myrica Gale.*

Fig. 5. — Cellule spéciale remplie de grosses sphérules déjà achromatiques et donnant l'aspect des Bactéries des tubercules d'*Alnus.*

Caragana tragacanthoides Poir.

Fig. 6. — Cellule spéciale dont le contenu bactérien est presque totalement digéré.

Fig. 7. — Cellule spéciale pleine de sphérules, les unes encore très chromatiques, les autres complètement décolorées.

Lespedeza Sieboldii Miq.

Fig. 8. — Cellules spéciales à membranes détruites, à noyaux hypertrophiés dont le nucléole bourgeonne. Les Bactéries sont des courts bâtonnets très chromatiques. Une quantité de grains d'amidon, simples ou composés, entre les masses bactériennes et à la place des cellules intermédiaires. Endochromidies sphériques.

Fig. 9. — Noyau hypertrophié mais conservant sa forme sphérique, possédant 2 nucléoles dont l'un montre un bourgeon.

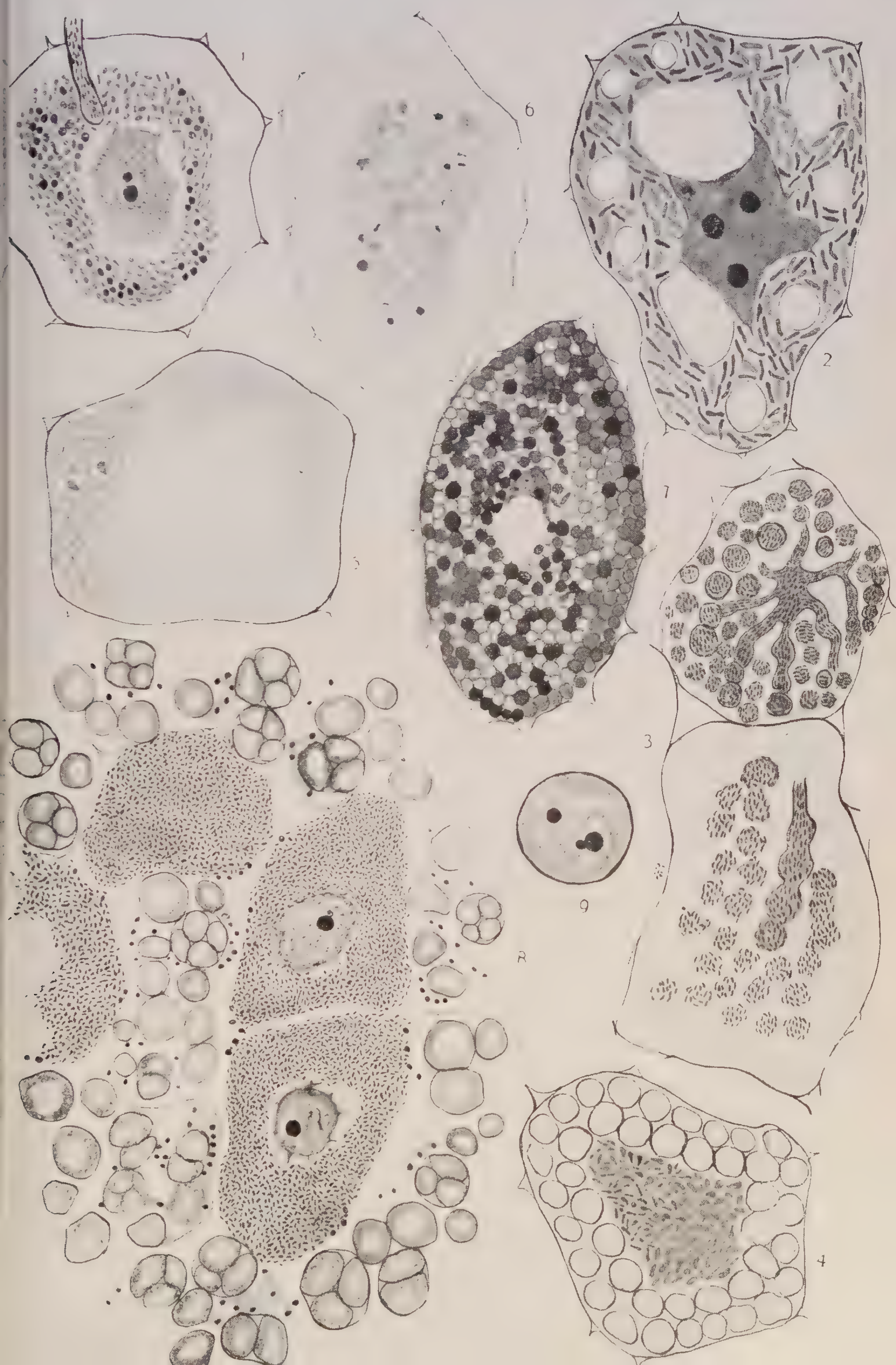

1
6
2
7
3
9
8
4

PLANCHE XXXIII

Colutea persica.

Aspect d'une partie de la medulle, où le microorganisme est en grande partie digéré et où les membranes cellulaires sont de place en place déchirées.

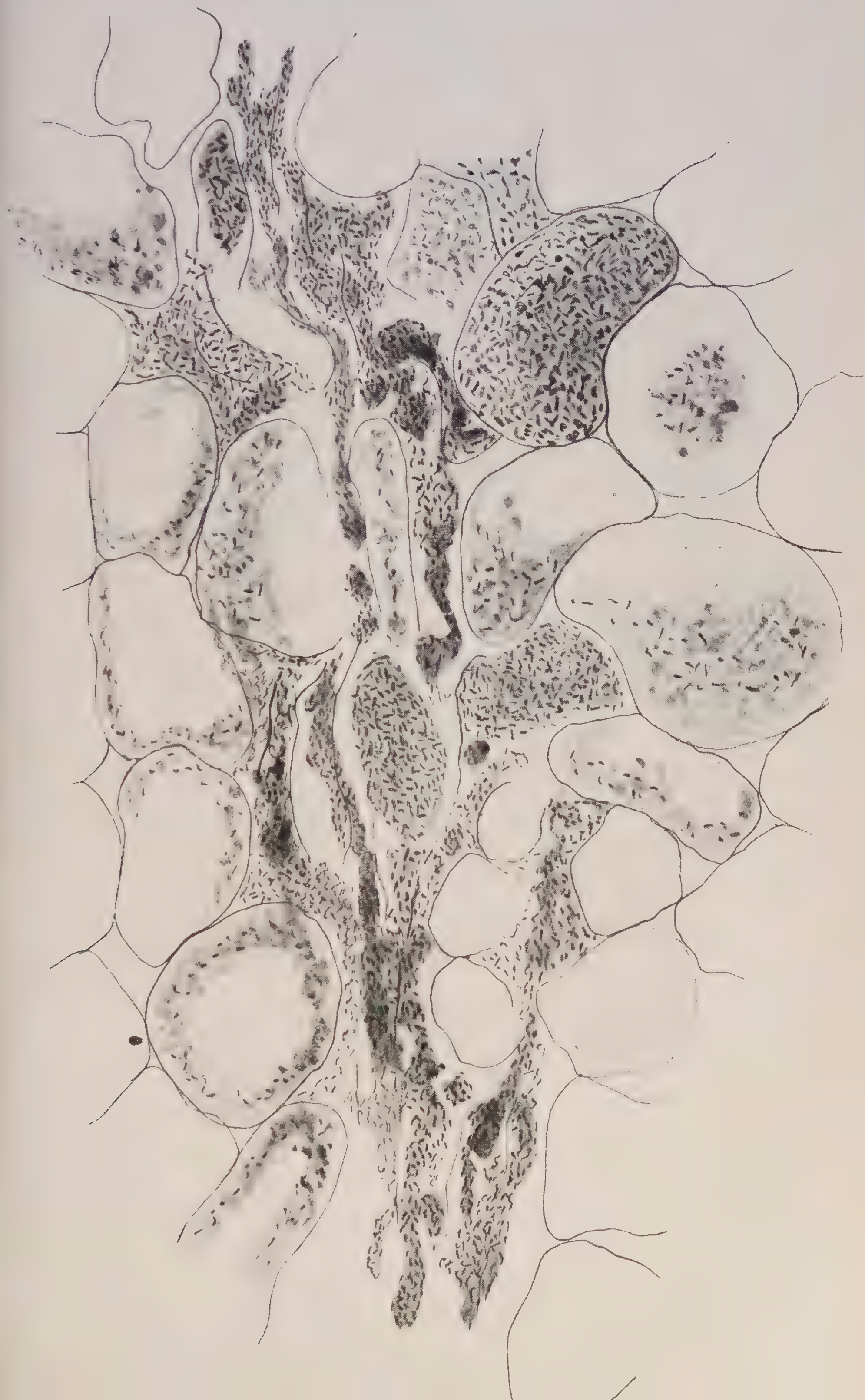


PLANCHE XXXIV

Astragalus hamosus L.

Fig. 1. — Cellule spéciale de la zone antérieure du tubercule.

Fig. 2-3-4. — Cellule spéciale de la zone moyenne, avec grandes vacuoles centrales. Les bactéries en bâtonnets sont devenues piriformes, puis sphériques.

Astragalus alopecuroides L.

Fig. 5. — Cellule spéciale à Bactéries piriformes, possédant plusieurs petites vacuoles et quelques grains d'amidon. Noyau représenté par une tâche noire de chromatine (après coloration à l'Hématoxyline).

Fig. 6. — Cellule spéciale dont le noyau est très déformé.

Fig. 7. — Cellule spéciale à grande vacuole centrale, autour de laquelle s'est déposée un peu de chromatine nucléaire.

Fig. 8. — Cellule spéciale à grande vacuole dont le contenu a précipité légèrement. A côté, cellules intermédiaires dont le contenu vacuolaire donne des endochromidies.

Astragalus glycyphyllos L.

Fig. 9. — Différents stades de l'évolution des Bactéries.

Fig. 10. — Cellule spéciale de la zone moyenne complètement remplie par le microorganisme.

Fig. 11. — Un aspect de la zone de la base du tubercule. Bactéries presque digérées. Digestion survenue même au stade de gros bâtonnets cylindriques ou piriformes. Nombreux filaments muqueux et vésicules cheminant dans le résidu de la masse bactérienne.

Fig. 12. — Cellule spéciale dont les Bactéries sont presque entièrement digérées ; mais le noyau persiste encore après avoir perdu son nucléole et toute substance chromatique.

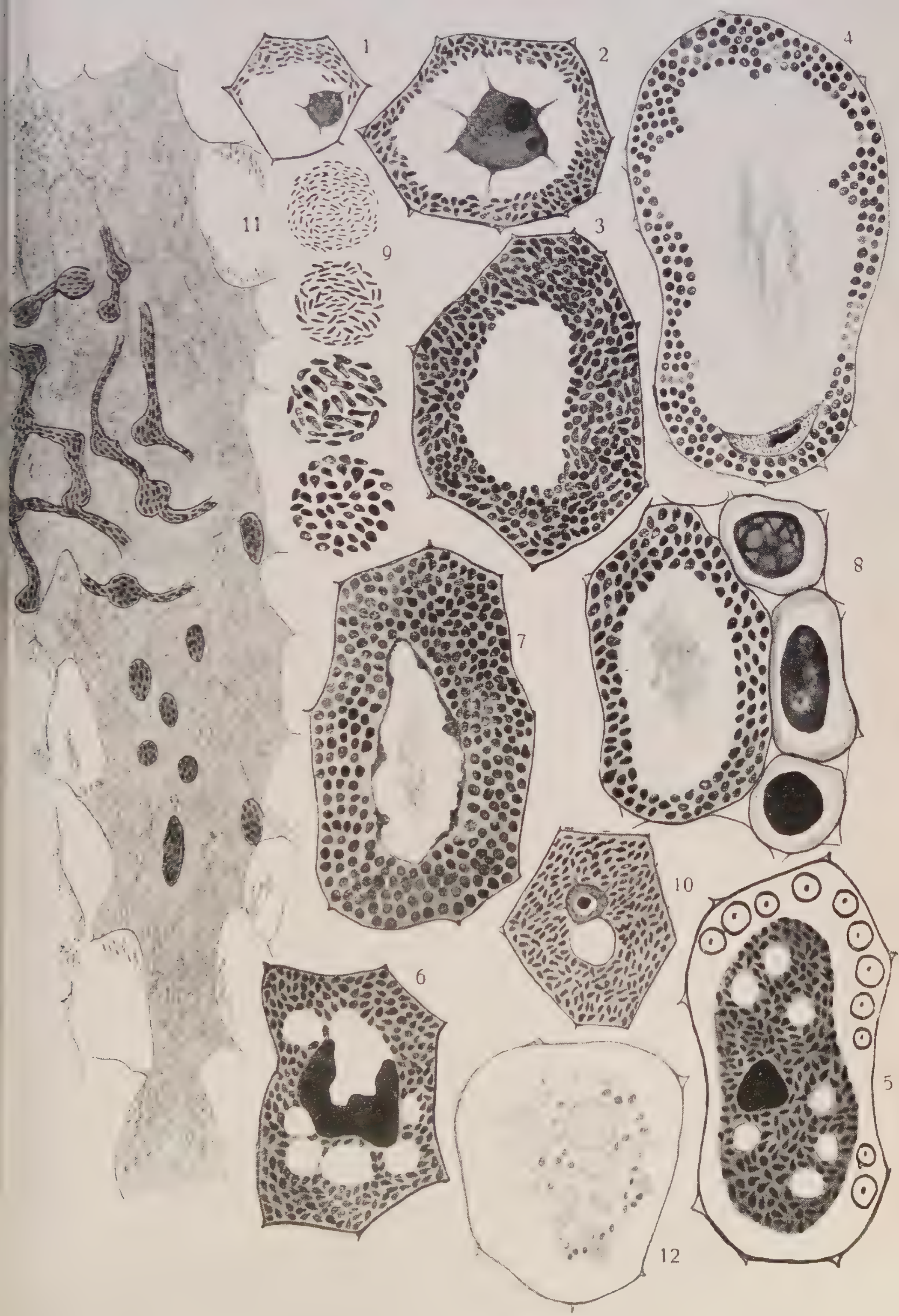

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12

PLANCHE XXXV

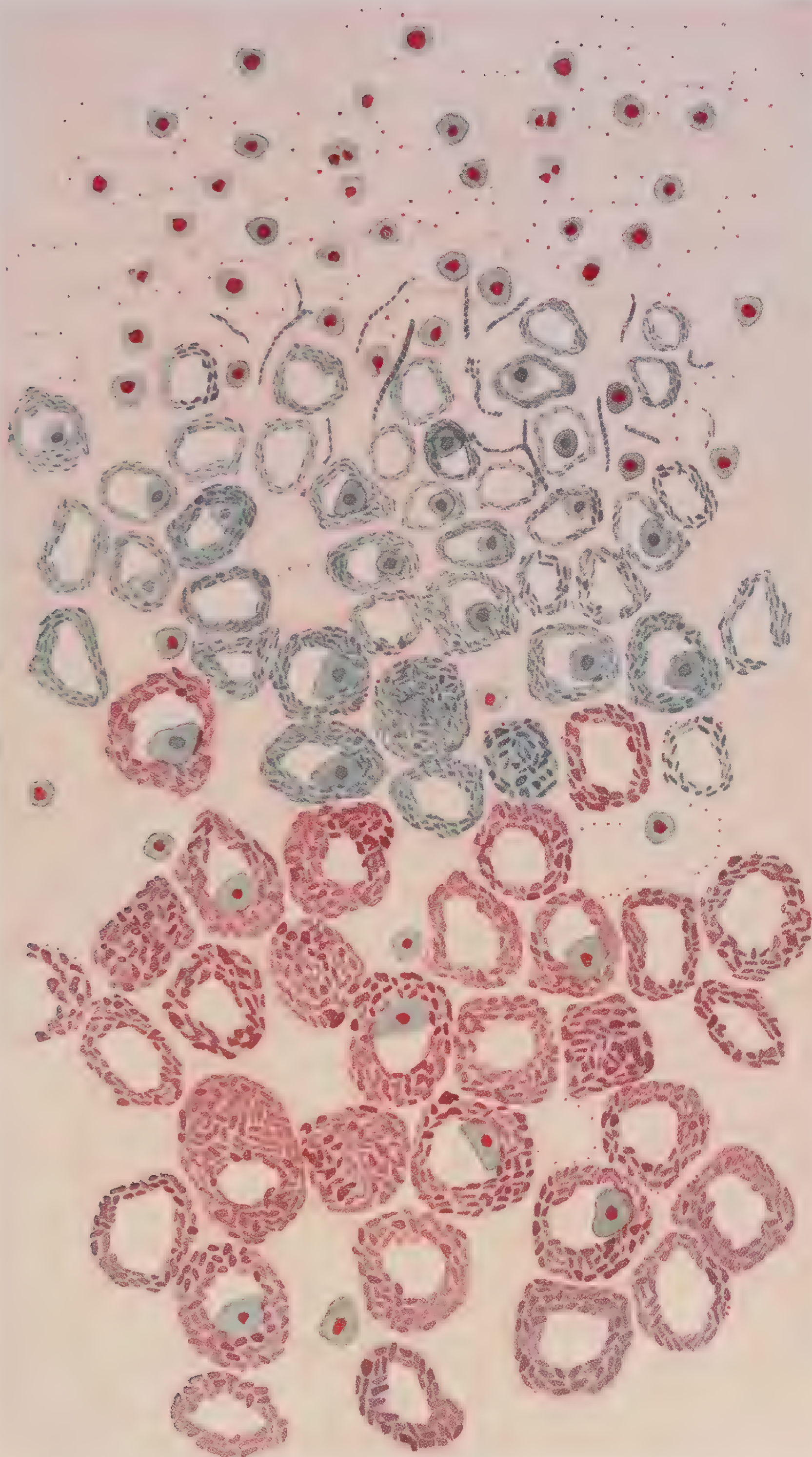
Coronilla scorpioides (L) Koch.

Coupe transversale d'un jeune tubercule. Coloration à la fuchsine acide et au vert de méthyle.

Les jeunes éléments bactériens sont colorés en bleu vert, tandis que les formes plus âgées prennent une teinte rouge violacée.

Les nucléoles se colorent également différemment dans les deux zones.

Les filaments muqueux sont extrêmement fins.



LARRIVE, IMP.

PLANCHE XXXVI

Coronilla glauca L.

Fig. 1-2. — Cellule spéciale avec une quantité de gros grains d'amidon.

Fig. 3. — Cellule spéciale de la zone moyenne avec une grande vacuole. Remarquer un large trabécule protoplasmique plein de bactéries à la périphérie du noyau.

Fig. 4. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée avec une couche pariétale de grains d'amidon. Bactéries claviformes. Un filament muqueux à l'intérieur du noyau.

Fig. 5-6. — Noyaux en bourgeonnement.

Fig. 7. — Cellule de l'écorce dont l'amidon est en digestion.

Coronilla scorpioides (L) Koch.

Fig. 8. — Cellule spéciale contenant quelques tout petits grains d'amidon, un noyau hypertrophié et une vacuole centrale. Les Bactéries sont claviformes.

Fig. 9. — Jeune cellule spéciale et un filament muqueux à la périphérie du noyau.

Cassia mimosoides L.

Fig. 10. — Jeune cellule avec quelques files de Bactéries.

Fig. 11. — Cellule spéciale pleine de Bactéries disposées en files.

Fig. 12-13. — Files de Bactéries, quelquefois groupées.

Fig. 14. — Cellule spéciale fortement hypertrophiée. Les Bactéries qui la remplissent possèdent un point chromatique au centre, tandis que leurs deux extrémités sont incolores. Noyau hypertrophié, le nucléole bourgeonne.

Arachis hypogaea L.

Fig. 15. — Jeunes cellules envahies par de fines Bactéries.

Fig. 16. — Cellule spéciale non hypertrophiée, les Bactéries sont encore en bâtonnets. A côté, une cellule de l'écorce pleine de grains d'amidon.

Fig. 17. — Cellule spéciale dont les Bactéries sont moins évoluées au centre que vers la périphérie.

Fig. 18. — Quelques cellules spéciales avec des Bactéries à différents stades de leur évolution.

Fig. 19. — Cellule spéciale, les sphérules bactériennes se décolorent, mais possèdent au centre un petit point chromatique.

Fig. 20. — Cellule spéciale où le contenu des sphérules est complètement digéré.

Fig. 21. — Cellule spéciale où il ne reste presque rien du microorganisme.

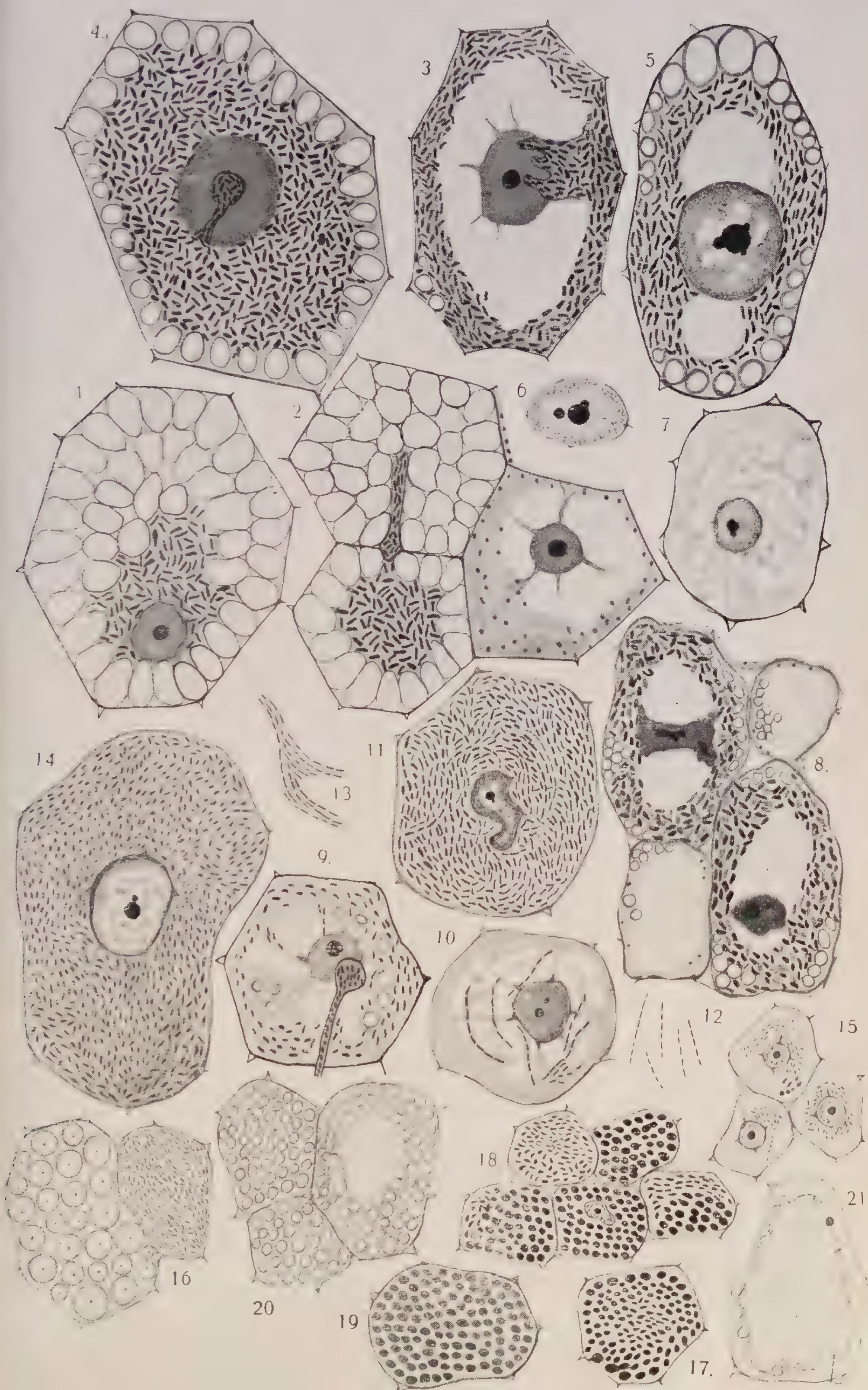

4
3
5
1
2
6
7
14
11
13
8
9
10
12
15
18
21
16
20
19
17

PLANCHE XXXVII

Coronilla iberica Bieb.

Fig. 1. — Cellules du sommet du tubercule avec quelques ramifications du filament muqueux.

Fig. 2. — Cellules de la zone antérieure où les Bactéries ont commencé à se multiplier et les noyaux à s'hypertrophier. A côté, deux toutes petites cellules intermédiaires.

Fig. 3. — Cellule spéciale avec une couronne de Bactéries et quelques grains d'amidon.

Fig. 4. — Cellule de la zone moyenne, fortement hypertrophiée et avec une grande vacuole centrale. Une partie des Bactéries a déjà évolué en sphérules.

Fig. 5. — Cellule spéciale pleine de Bactéroïdes et de sphérules. Tous ces éléments sont vacuolisés.

Fig. 6. — Cellule spéciale pleine de sphérules très décolorées.

Fig. 7. — Cellule spéciale dont le contenu bactérien est presque digéré.

Fig. 8. — Cellule spéciale ne contenant plus, après la digestion complète du microorganisme, qu'un résidu amorphe et incolore.

Fig. 9. — Une cellule (tubercule anormal) de la zone basilaire où la structure du tubercule est presque normale. Les Bactéries, en forme de sphérules, se trouvent au stade de digestion.

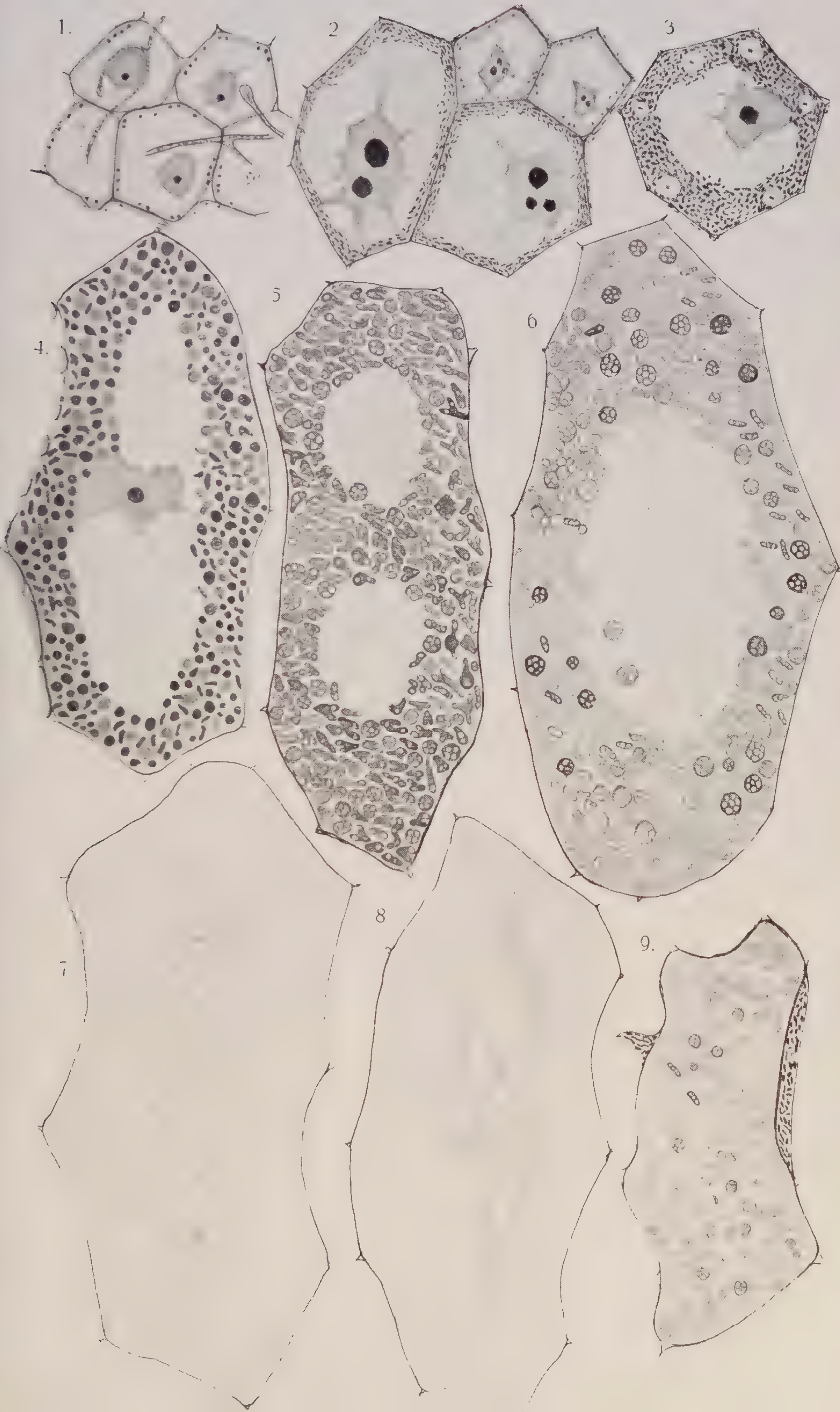

1.
2
3
4.
5
6
7
8
9.

PLANCHE XXXVIII

Coronilla iberica Bieb.

Coupe transversale d'un tubercule anormal, envahi par les Bactéries, par un Pythium et par un nématode (ce dernier n'est pas représenté). La medulle est constituée par de toutes petites cellules polyédriques. Le mycélium du Syphomycète pénètre partout dans les tissus du tubercule et forme une quantité de sporanges. Vers la périphérie, des groupes de cellules pleines de Bactéries.

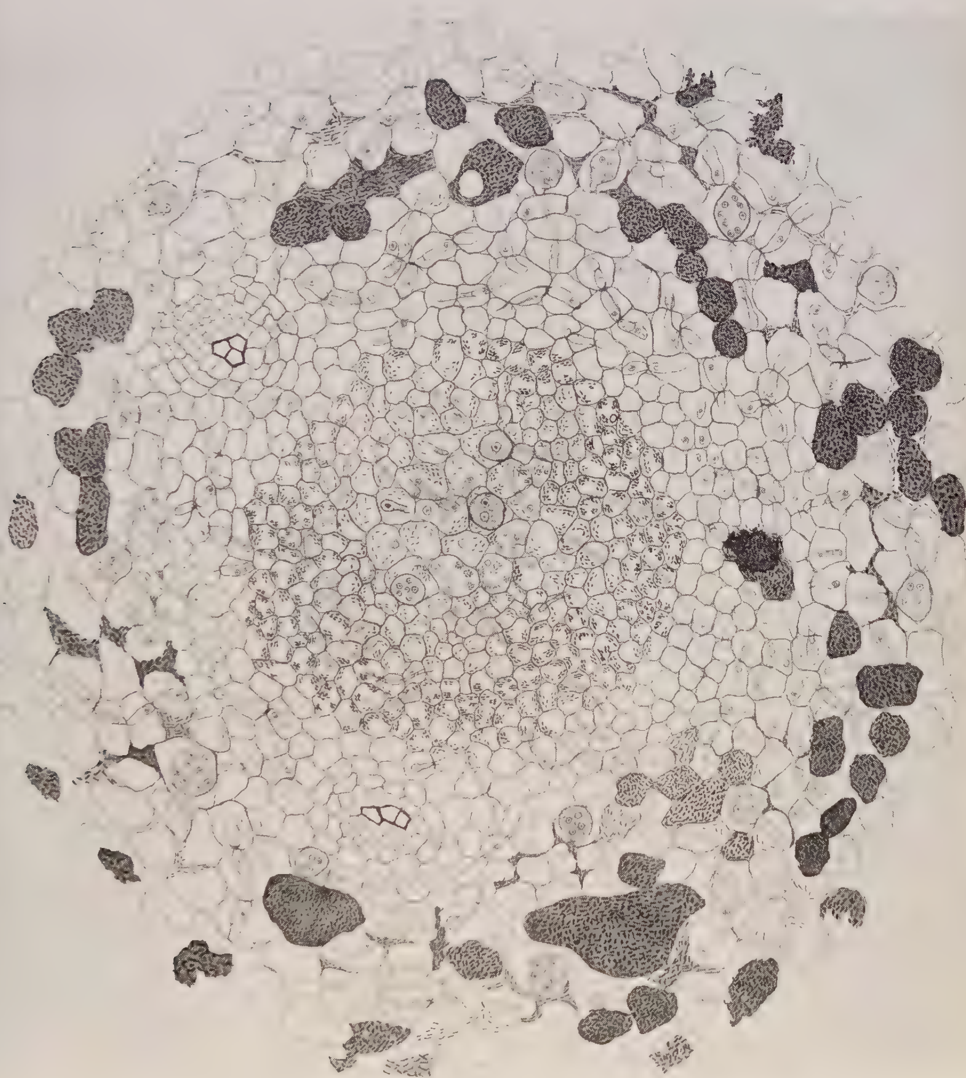


PLANCHE XXXIX

Ascorhiza Leguminosarum (1) Dans un tubercule d'*Astragalus alopecuroides* L)

Fig. 1-2. — Filaments accolés parallèlement. Le plus gros dont le noyau s'est divisé, représente l'Ascogone, l'autre est le trophogone.
Fig. 3. — Ascogone dont le noyau s'est divisé successivement 2 fois.
Fig. 4, 5, 6, 7, 8 et 9. — Enroulement et cloisonnement du filament ascogène ou gamétophore.
Fig. 10, 11 et 12. — Jeunes périthèces avec leur gamétophore.
Fig. 13. — Périthèce avec quelques articles binucléés et cellules nourricières.
Fig. 14. — Périthèce contenant deux cellules œufs et 4 articles binucléés.
Fig. 15. — Périthèce avec asque mûr, une cellule œuf et 2 articles binucléés.
Fig. 16. — Spore.
Fig. 17, 18, 19, 20 et 21. — Chlamydospores.
Fig. 22. — Ascogone transformé en chlamydospore.

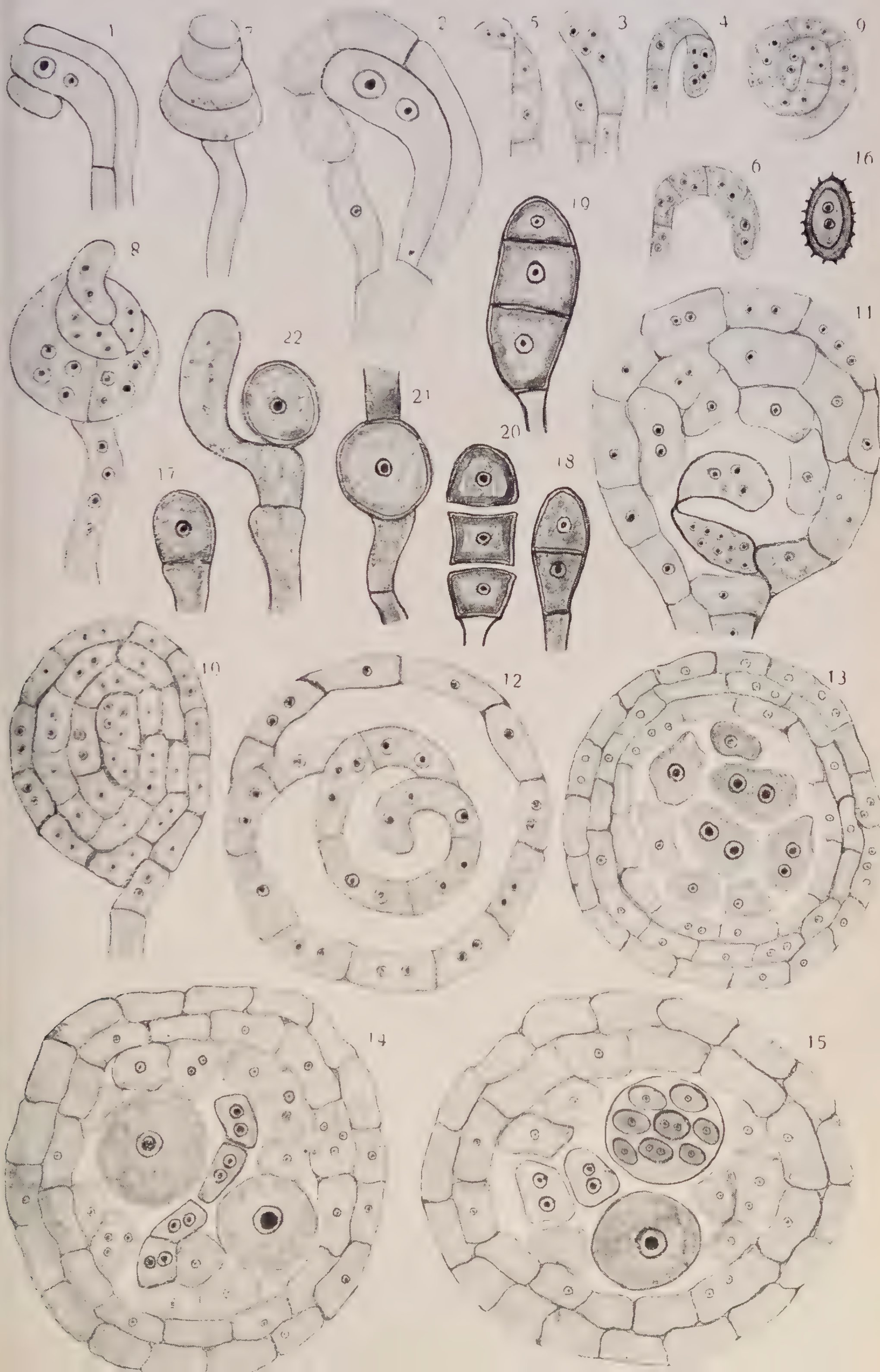

1
7
2
5
3
4
9
6
16
19
8
22
21
11
20
18
17
10
12
13
14
15

PLANCHE XL

Ascorhiza Leguminosarum.

(2. dans un tubercule de *Brachyzema lanceolatum* Meisn).

Fig. 1-2-3. — Filaments ascogènes.
Fig. 4-5. — Cellules mycéliennes, dont le noyau se trouve au stade de la prophase. Le filament chromatique est très net.
Fig. 6-7. — Enroulement du gamétophore.
Fig. 8. — Jeune périthèce à articles binucléés. Cellule œuf et jeune asque.
Fig. 9. — Périthèce mûr avec quelques ascospores.
Fig. 10. — 2 ascospores mûres.
Fig. 11. — Chlamydospores.

(3. dans un tubercule de *Cytisus Scoparius* L.)

Fig. 12. — Filaments mycéliens.
Fig. 13, 14, 15 et 16. — Quelques stades de la formation du gamétophore.
Fig. 17. — Périthèce formé dans une partie de la medulle du tubercule. Il atteint de fortes dimensions et mesure 85 μ de diamètre. Les deux couches de son péridium sont envahies par des Bactéries. A son intérieur se trouvent les cellules nourricières, des cellules binucléées, quelques cellules œufs et un jeune asque dont les 4 noyaux vont se diviser encore une fois pour donner les 8 énergides des 8 ascospores. Le noyau de chaque cellule œuf et les noyaux du jeune asque sont entourés de cytosomes.
Fig. 18. — Spore binucléée à membrane cutinisée et réticulée.
Fig. 19. — Chlamydospores.

(4. dans un tubercule de *Cytisus Scoparius* Var. *Andreanus* Hort.)

Fig. 20-21. — L'Ascogone déjà plurinucléé, est en train de s'enrouler.
Fig. 22. — Deux jeunes périthèces formés dans une même cellule.
Fig. 23. — Périthèce contenant des spores mûres.
Fig. 24. — Spore à membrane réticulée.
Fig. 25. — Chlamydospores.

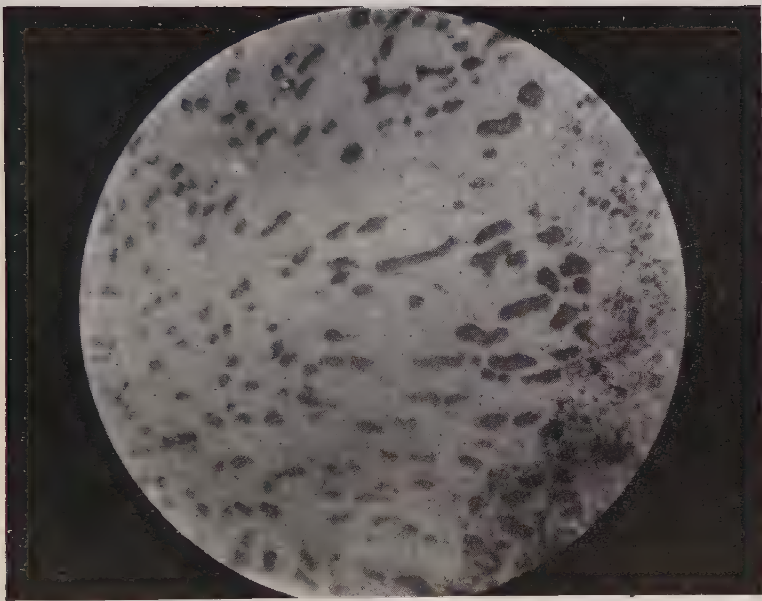

8
9
7
6
4
5
11
3
10
1
2
17
12
19
16
14
18
15
13.
23
22
24
25
21
20.

PLANCHE XLI

Acacia Melanoxylon R. Br.

Fig. 1. — Médulle avec cellules spéciales et intermédiaires.

Fig. 2. — Cellule spéciale bien plus longue que le diamètre du champ du microscope, mesurant 250 μ de longueur et entourée de cellules intermédiaires. Grossissement 960 ×.



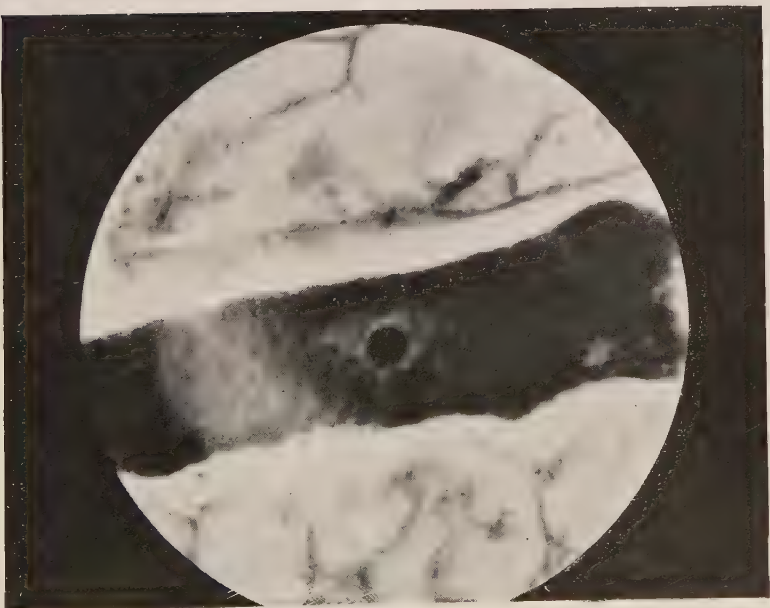


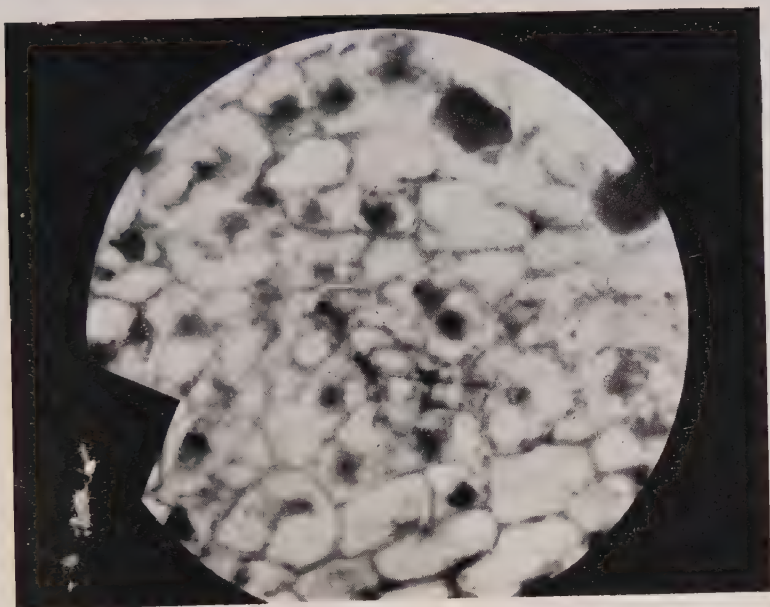
PLANCHE XLII

Acacia Melanoxylon R. Br.

Fig. 1. — Filament muqueux avec ses ramifications extrêmement fines.

Acacia Floribunda Hort.

Fig. 2. — Coupe transversale d'un jeune tubercule dont les cellules de l'écorce sont pleines de précipitations. On y voit la disposition des faisceaux et au centre la médulle avec ses cellules spéciales et intermédiaires.



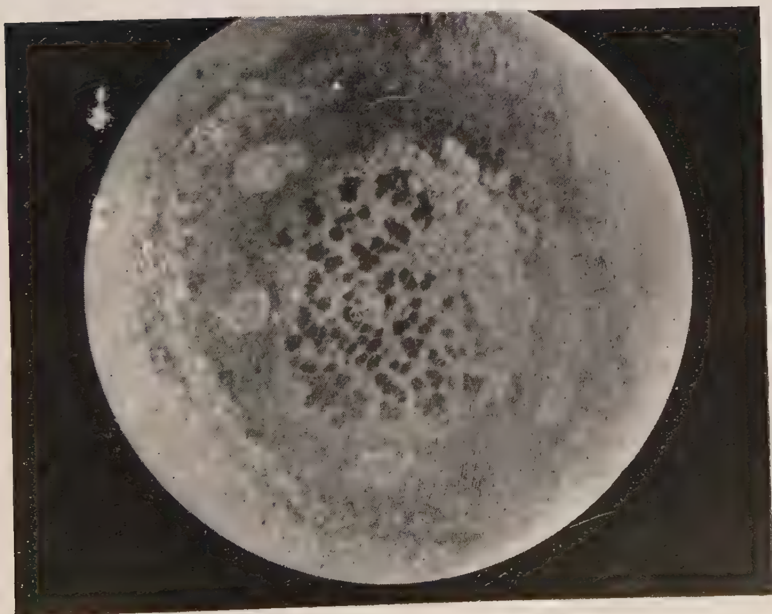
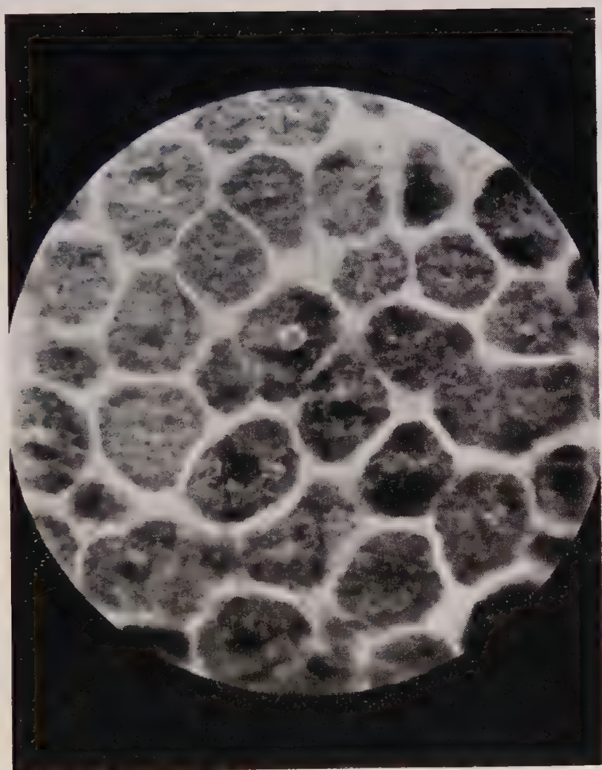


PLANCHE XLIII

Cytisus Capitatus.

A. — Cellules spéciales qui n'ont subi presque aucune hypertrophie ainsi que leurs noyaux.

B. — Aspect d'une coupe longitudinale d'un tubercule.



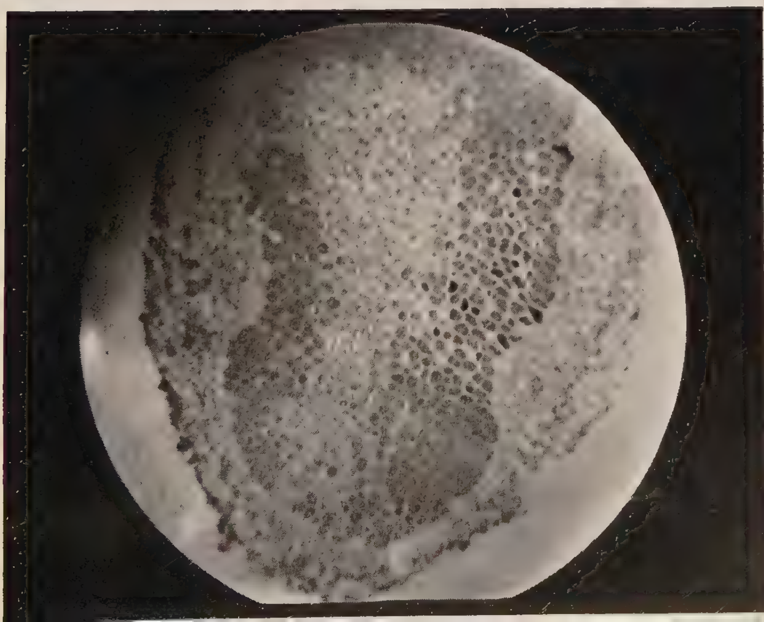


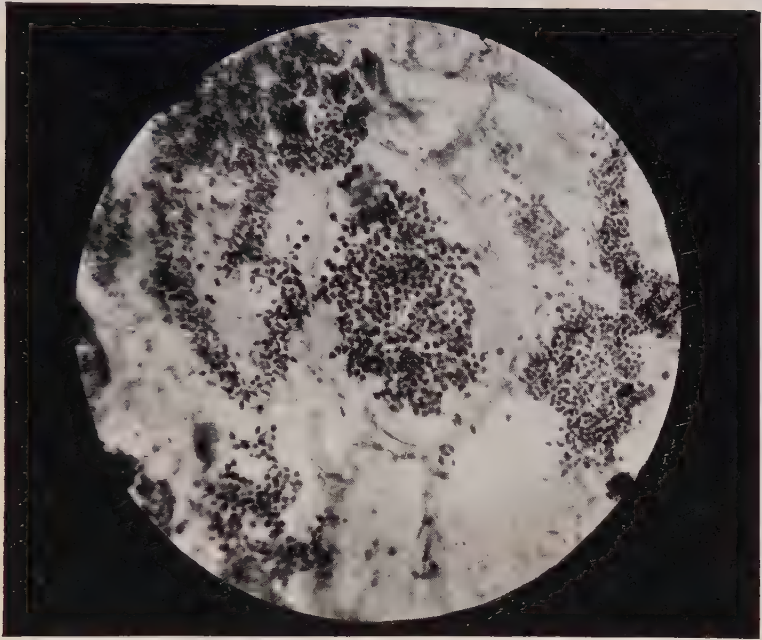
PLANCHE XLIV

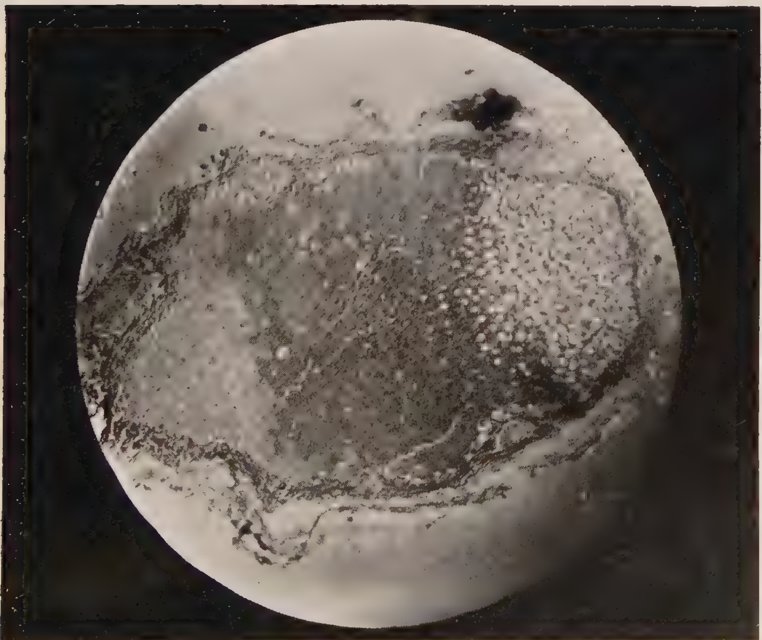
Ononis viscosa L.

A. — Cellules spéciales et intermédiaires, les premières possédant des grains d'amidon et des Bactéries, les secondes seulement des grains d'amidon.

Astragalus glycyphyllos L.

B. — Coupe longitudinale d'un tubercule. On voit très nettement les trois différentes zones.





La Direction du *Botaniste* par suite d'échanges anciens dispose d'un certain nombre de périodiques français et étrangers, dont un plus ou moins grand nombre de volumes sont disponibles.

1° *Revue mycologique* de Roumeguère. Belle reliure, sauf pour les années 24 à 28. Collection complète. Manquent seulement nos 106 et 111.

2° *Botanical Gazette*, 23 volumes de 1909 à 1920, Bd. 47-69. Manquent nos 5, 49 ; nos 3, 52 ; nos 5, 55 ; nos 6, 60 et 62 ; nos 2, 68.

3° *Botanisk Tidsskrift*, 8 vol. reliés, t. 17-24 ; 4 vol. brochés, t. 26 à 29.

4° *Revue de Botanique ou Bulletin mensuel de la Société française de Botanique*. Collection allant du no 25 au no 156 : manquent les nos 116 à 126.

5° *Le Monde des plantes* de H. Léveillé, 11 vol. de 1892 à 1902. La publication à partir de 103 devient : *Bull. Acad. intern. Géographie botanique*. 7 vol. de 1903 à 1908 jusqu'au no 242.

6° *Rivista di Patologia vegetale* de Berlèse, vol. I à VI, 1892-1897. Belle reliure.

7° *Hedwigia*. Volumes 1889 à 1913. Reliure jusqu'à 1913. Manquent nos 2 et 5, XLV ; nos 3, XLVIII ; no 3, LIII.

8° *Bulletin des sciences naturelles de l'Ouest*, t. I, XIII, reliés (1891-1903); 3 vol. brochés 1904-1906 : 4 vol. brochés 1909-1912 : 1913, no 1 ; 1914, no 3 et 4.

9° *Annales de Micographie* du Dr Miquel, vol. III-X. Manquent no 1, III ; no 9, VII ; no ; IX ; nos 10-12, X.

10° Zeitschrift f. Pflanzenkankheiten de Soraner, Bd. I, 1891.

11° *Nuovo Giornale Botanico Italiano*. Série ancienne 1888-1893, 6 volumes complets. — Nouvelle série 1894-1914. Manquent nos 1, 2, 3, I ; no 3-4, II ; no 1-3, V ; VI absent ; nos 2-4, VII ; no 2-4, XVIII ; no 12, XXI.

12° *Bolletino del Naturalista*, 1897-1906, XVII-XXVI. Manquent nos 3, 7, 8, 9, XXV ; XXVIII est représenté par nos 1-4.

Bolletino della Societa Botanica Italiana. Manquent nos 1-6, 1898 ; nos 1-3, 1900 ; les vol. 1901-1902, 1923, 1904 sont complets : quelques nos existent pour les années 1910 et 1912.

Rivista italiana di Scienze naturali, vol. X-XVII, 1890-1897. Le no de décembre XII manque.

13° La *Nuova Notarisia*, vol. XX-XIII, complets ; XXIV, manque avril ; XXV-XXVI, complets ; XXVII, manque octobre ; XXVIII, manque juillet ; XXIX, XXX, XXXI, XXXII, XXXIII complets.

Faire des offres à la Direction du *Botaniste*, soit pour échanger, compléter, soit pour acheter.

